



Leptoglossus occidentalis:

Bioecologia e previsão de impacto económico em Portugal

Miguel Lourenço Cristóvão Pimpão

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Florestal e Gestão dos Recursos naturais

Orientadores: Manuela Rodrigues Branco Simões; Edmundo Manuel Rodrigues de Sousa

Co-orientador: Maria Teresa Moreira Valdivieso Spínola

Júri:

Presidente: Doutora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Vogais: Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, Professora Auxiliar com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;
Doutor Luis Mendes Godinho Milheiro Fontes

Lisboa, 2014

"Eu fui à Floresta porque queria viver livre.
Eu queria viver profundamente,
e sugar a própria essência da vida...
expurgar tudo o que não fosse vida;
e não, ao morrer, descobrir que não havia vivido."
[Henry David Thoreau](#)

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Doutor Edmundo Sousa pela aceitação e receção no laboratório do INIAV, camaradagem, compreensão, disponibilidade para me apoiar no laboratório e no campo, bem como orientar, esclarecer dúvidas e efetuar correções na dissertação. A ele o meu muito obrigado.

Agradeço igualmente à Professora Manuela Branco (ISA) que se mostrou sempre disponível para tirar todo o tipo de dúvidas referentes à tese.

À Doutora Teresa Valdivieso pelo excelente acolhimento no seio da equipa, amizade, compreensão e toda a ajuda prestada não só na parte da fenologia reprodutiva, biometria e ontogenia do pinheiro-manso como igualmente em outras partes da Dissertação. Sem dúvida uma ajuda incansável ao longo do presente trabalho.

Agradecimentos à Doutora Carolina Varela pelo auxílio prestado em todas as vertentes do meu trabalho, tendo sido igualmente uma ajuda vital para a elaboração do presente trabalho.

Um especial agradecimento à Engenheira Cândida Sofia Trindade pelo incentivo, amizade, camaradagem e ajuda proporcionada ao longo de todo o trabalho, em especial na parte da Histologia.

Agradecimentos à Engenheira Cláudia Ferreira pelo auxílio prestado ao longo de todo o ano de 2012.

Ao Francisco Luz pelo excelente espírito de camaradagem e ajuda prestada no laboratório.

Um agradecimento à APFC (Associação de Produtores Florestais de Coruche) por permitirem realizar estudos fenológicos no Parque Clonal de Coruche (Quinta Grande).

A todas as pessoas pertencentes ao INIAV que me acolheram na equipa e de alguma forma ajudaram para a realização da minha dissertação.

Finalmente um agradecimento aos meus pais, restante família e amigos que sempre me motivaram e deram força para realização do Mestrado e da correspondente Dissertação.

Resumo e Palavras-chave

O pinheiro-manso é uma das espécies florestais mais importantes no contexto florestal português, gerando benefícios económicos para as entidades que exploram a espécie, nomeadamente na produção de fruto (pinhão). Nos últimos anos tem-se verificado uma elevada incidência de pragas e doenças na espécie, pelo que urge realizar estudos sobre estes agentes, bem como a sua interação com a fenologia reprodutiva do pinheiro-manso.

Através da análise de pinhas recolhidas nos principais postos de receção, verificou-se elevada incidência de três espécies: *Diplodia pinea* (fungo), *Pissodes validirostris* (Coleóptero) e *Dioryctria mendacella* (Lepidóptero).

Em 2010 foi detetada a presença de *Leptoglossus occidentalis* em Portugal, um inseto sugador que se alimenta de sementes de várias espécies de coníferas e que pode afetar seriamente a produção de pinhão. Neste estudo realizaram-se capturas e acompanhou-se com sucesso o seu ciclo biológico em condições de laboratório.

Devido às lacunas de conhecimento no que trata à biologia reprodutiva do pinheiro-manso, realizaram-se observações fenológicas no Parque Clonal de Coruche e em Santa Suzana (concelho de Sintra), tendo sido possível perceber a evolução fenológica da espécie. Procedeu-se igualmente à recolha de material de *P. pinea* para observações histológicas das estruturas reprodutivas.

Palavras-chave: Pinheiro-manso, produção de pinhão, pragas, doenças, *Leptoglossus occidentalis* e Fenologia reprodutiva.

Abstract

Stone Pine *Pinus pinea* is one of the most important forest species in Portuguese forestry. The species generates relevant economic benefits, particularly through the production of cones (pinion). An increasing incidence of pests and diseases observed affecting the cones in the latest years, alerted for the need of research on these organisms, as well its interactions with the stone pine reproductive phenology.

Through the analysis of pine cones collected in the five main districts at national level, high incidence of three biotic agents were found: *Diplodia pinea* (fungus), *Pissodes validirostris* (Coleoptera) and *Dioryctria mendacella* (Lepidoptera).

In 2010 *Leptoglossus occidentalis* was detected for the first time in Portugal, a sucking insect that feeds on seeds of various species of conifers and can seriously affect the production of Stone Pine pinions. In the field we have conducted observations and several individuals were collect. The bugs were then successfully reared in laboratory conditions.

Phenological observations on the reproductive biology of the Stone Pine were made in Coruche Clonal Park and Santa Susana (Sintra) and the reproductive structures were described along its developmental phases. The reproductive structures of *P. pinea* were further analysed using histological techniques.

Keywords: Stone Pine, pinion production, pests, diseases, *Leptoglossus occidentalis*, reproductive phenology.

Extended Abstract

Stone Pine *Pinus pinea* L. is a mediterranean conifer used for the production of wood, resin and pinions, being this non-wood product the most known and profitable. The species occupies an area of 175 742 ha in Portugal accounting for 60-70 million Kg of cones production per year, corresponding to 600-700 tones of pinions. Yet, pinion yield can be compromised by biotic factors, namely the native insect pests *Pissodes validirostris*, *Dioryctria mendacella* and the alien insect pest *Leptoglossus occidentalis* as well as the fungus *Diplodia pinea*. In recent years pinion yield has dropped to alarming figures, causing concern with the possible impacts caused by these organisms. To date such impacts have not yet been determined.

L. occidentalis is a sucking insect native to North America which feeds on seeds of various species of the genus *Pinus* and other conifers. The species was recently introduced in Portugal (2010) and currently seems distributed from north to south. Several methods have been tested to control the species but until now no truly effective method was found.

This study aims to analyze the cone production in most recent years in Portugal to evaluate a possible decline trend. A second objective was to determine the incidence of the several pests and diseases on the cone produced. A special study was conducted to evaluate the presence of *L. occidentalis* in the field feeding on *P. pinea* cones and collect individuals to rear and study in the laboratory. Finally, we aimed to describe the reproductive phenology of *P. pinea* in order to relate it to the life cycle of different pests and diseases.

To analyze the cone production and pinion yield in recent years, data was collected from the main pinion producers (2000-2001 to 2011-2012 for the cone production and 1994-1995 to 2011-2012 for the pinion yield). Pinion yield and the incidence of biotic damage were analyzed through a random harvest of at least 10 cones on five districts producers (Santarém, Setúbal, Évora, Portalegre and Viseu). The fresh weight of each cone, the total number of pinions, the percentage of empty pinions, as well the presence of biotic agents were assessed in the 2010-2011 and 2011-2012 campaigns. Differences in these variables for the five districts and two campaigns were analyzed by ANOVAs.

Data collected from the main industries revealed that the highest cone production was achieved in the 2010-2011 campaign (about 120 million Kg), whereas in 2011-2012 the production was reduced to about 25 million Kg. The yield of pinions per cone in the past has been about 3,5-4%. This value decreased in two consecutive

breaks in 2010/2011 (3,3%) and 2011/2012 (2,5%). Significant differences were found between campaigns and districts in the fresh weight, total number of pinions and the percentage of empty pinions. Values were lower in the 2011/2012 campaign, compared to those observed in 2010/2011. It was possible to detect *P. validirostris*, *D. mendacella* and *D. pinea* on several cones, mainly on the 2011-2012 campaign. However, values did not differ significantly from 2010-2011.

To study *L. occidentalis* life cycle, it was necessary to install etamine bags with nymphs and adults of *L. occidentalis* in stone pines of the Coruche Clonal Park and Alcácer do Sal Clonal Park (August 2012) to follow its survival and development in natural conditions. There was 100% mortality in the insects placed in the Coruche Clonal Park whereas 41% individuals survived in the Alcácer do Sal Clonal Park.

In 2012 and 2013 *L. occidentalis* life cycle was studied under laboratory conditions, starting with egg masses (three essays), nymphs (one essay) and adults (two essays). From 51 egg batches which hatched in the laboratory, nymphs developed until the second instar fed with pine branches, cones, and honey solution. On second instar almost 100% mortality was verified due to inadequate food, espace or temperature conditions. 150 nymphs/adults captured in the field developed in laboratory conditions (except again for the second instar nymphs). It was possible to verify that *L. occidentalis* take about 2 months and half to complete its lifecycle at ca. 20-25° C.

The length of the body and stylet on the five nymphal stages and adult were determined. Stylet length increases by 2,5x on the second instar, indicating that at this stage the insect need a greater amount of food.

In order to follow the evolution of reproductive structures of stone pines and their susceptibility to damage caused by *L. occidentalis* and other pests and diseases, a study of phenology was conducted in Coruche Clonal Park (two parcels of 20 trees each). Another survey was conducted in Santa Susana (Sintra), being registered the phenology, cone biometrics and ontogeny. On both sites, the pollination occurred between mid-April to mid-May, flowering began in mid-April and ended in late May. Subsequently, the cones remained quiescent until 23 months of age and started to grow rapidly on March of the third year.

In Coruche Clonal Park was also possible to quantify the flowers of the year and cones with 1 and 2 years. An increase on first spring flowers and a decrease of second spring cones were verified. High rate of mortality of pine cones during their first and second year of development was verified. The reproductive structures are described by microscopic histological observations, as well damage in second spring cones.

Measurements were made on the distance between the outside of the cones and the nearest area of the ovule. A distance of 0,5mm in first spring cones, 2,2mm in the second spring and 5mm in the third spring were observed, indicating that all stages of development of *L. occidentalis* are capable of damaging the ovules, except the first instar on the third spring cones. After fertilization, the cone has a very hard seed coat and the insects possibly cannot feed on the ovule.

Comparing the phenology of the Stone Pine with the biotic agents life cycles, in particular *L. occidentalis*, it's possible to verify that all species are active during the flowering/pollination and late summer periods.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo e Palavras-chave	ii
Abstract	iii
Extended Abstract	iv
Índice	vii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Figuras	xi
Lista de símbolos e abreviaturas	xvi
1. Introdução	1
2. Enquadramento do tema	3
2.1. O pinheiro-manso e a sua importância económica	3
2.1.1. Biologia reprodutiva	3
2.1.2. Distribuição geográfica e fatores limitantes	4
2.1.3. A importância económica do pinheiro-manso	4
2.2. As pragas e doenças do pinheiro-manso	6
2.2.1. A lagarta das pinhas <i>Dioryctria mendacella</i>	7
2.2.2. O gorgulho das pinhas <i>Pissodes validirostris</i>	7
2.2.3. O sugador das pinhas <i>Leptoglossus occidentalis</i>	8
2.2.4. O <i>Dieback</i> do pinheiro <i>Diplodia pinea</i>	11
2.2.5. Outras doenças e pragas	12
3. Materiais e Métodos	14
3.1. Produção de Pinhão em Portugal	14
3.1.1. Quantificação da produção e rendimento da pinha/pinhão	14
3.1.2. Estudo do impacto e identificação dos agentes bióticos na produção de pinha/pinhão (campanhas de 2010/2011 e 2011/2012)	14
3.2. Estudo da biologia de <i>L. occidentalis</i> em Portugal	17
3.2.1. Recolha de <i>L. occidentalis</i> em condições de campo para acompanhamento em laboratório	17
3.2.2. Avaliação do ciclo biológico em condições naturais	19
3.2.3. Avaliação do ciclo de vida de <i>L. occidentalis</i> em laboratório	20
3.2.4. Determinação do comprimento do estilete e do corpo do <i>L. occidentalis</i>	26
3.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-manso	26
3.3.1. Estudo da Fenologia reprodutiva	26
3.3.2. Fenologia, biometria e ontogenia das estruturas reprodutivas	28

4. Resultados	32
4.1. Produção de pinhão em Portugal.....	32
4.1.1. Quantificação da produção e rendimento da pinha/pinhão	32
4.1.2. Estudo do impacte e identificação dos agentes bióticos na produção de pinha/pinhão.....	34
4.2. Estudo da biologia de <i>L. occidentalis</i> em Portugal.....	44
4.2.1. Capturas de <i>L. occidentalis</i> em condições naturais.....	44
4.2.2. Avaliação do ciclo biológico em condições naturais	45
4.2.3. Avaliação do ciclo de vida de <i>L. occidentalis</i> em laboratório	46
4.2.4. Determinação do comprimento do estilete e do corpo do <i>L. occidentalis</i>	56
4.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-manso	58
4.3.1. Estudo da fenologia reprodutiva	58
4.3.2. Fenologia e biometria das estruturas reprodutivas	62
5. Discussão e Conclusões.....	69
5.1. Produção de pinhão em Portugal.....	69
5.2. Estudo da biologia de <i>L. occidentalis</i> em Portugal.....	70
5.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-manso	73
Considerações finais.....	78
Referências bibliográficas	79

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Locais onde foram efetuadas colheitas aleatórias de pinhas (2010-2011) para a avaliação dos dados de rendimento de pinha/pinhão.....	15
Tabela 2 - Locais onde foram efetuadas colheitas aleatórias de pinhas (2011-2012) para a avaliação dos dados de rendimento de pinha/pinhão.....	16
Tabela 3 - Identificação das mangas colocadas no PC de Coruche, descrição do número de <i>L. occidentalis</i> e caracterização dos ramos.	19
Tabela 4 - Identificação das mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal, descrição do número de <i>L. occidentalis</i> e caracterização dos ramos.	19
Tabela 5 - Correlação entre a Produção e o Rendimento do ano anterior e de dois anos atrás para o período de 10 campanhas (2000 a 2012).	34
Tabela 6 - Amostragem de pinhas e pinhões com casca nos cinco distritos analisados (\bar{x} = média, σ = erro padrão e Δ = máx; min).....	35
Tabela 7 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “peso verde” (ano*local).	36
Tabela 8 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “número total de pinhões” (ano*local).	37
Tabela 9 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhões vazios”.....	39
Tabela 10 - Presença de <i>D. pinea</i> , <i>P. validirostris</i> e <i>D. mendacella</i> nas amostras de pinhas de cada distrito, nas campanhas de 2010-2011 e 2011-2012.	40
Tabela 11 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhas com <i>P. validirostris</i> ”.	43
Tabela 12 - Resultados da ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhas com <i>D. mendacella</i> ”.....	44
Tabela 13 - Data, local, tipo de captura e número de <i>L. occidentalis</i> capturados ao longo do ano de 2013.	45
Tabela 14 - Número e estágio de <i>L. occidentalis</i> observados nas quatro mangas colocadas no PC de Coruche, entre Agosto e Novembro de 2012 (data inicial de 8 de Agosto de 2012).	45
Tabela 15 - Número e estágio de <i>L. occidentalis</i> observados nas cinco mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal, entre Agosto de 2012 e Abril de 2013.	46
Tabela 16 - Informação relativa aos 3 ensaios de posturas de <i>L. occidentalis</i> (2012 e 2013), em relação ao número de posturas, número de ovos, número de ovos eclodidos e número de dias para a eclosão. (\bar{x} = média, σ = erro padrão).	47

Tabela 17 - ANOVA a um fator (teste LSD) efetuada para a variável “número de dias para a eclosão”, onde $F(\text{data}) = 14,25920$; $p < 0,001$; $gl = 44$	48
Tabela 18 - Média por mês, ano e geral do número de ovos por postura e número de ovos eclodidos.	48
Tabela 19 - Número de dias de cada instar e taxa de sobrevivência das ninfas eclodidas nas 3 gerações de posturas (2012 e 2013).....	49
Tabela 20 - Origem, número de insetos e número de posturas realizadas relativas aos adultos provenientes das mangas do PC de Alcácer do Sal (2 de Abril de 2013) e capturados em Santa Suzana (29 de Abril de 2013).....	52
Tabela 21 - Diferentes instares e respetivas exúvias de <i>L. occidentalis</i> fotografados durante o estudo realizado em §4.2.3..	56
Tabela 22 - Medições efetuadas no comprimento do estilete e corpo de indivíduos de <i>L. occidentalis</i> (\bar{x}) e respetivo rácio (comp. estilete / comp. corpo).	57
Tabela 23 - Fenologia das estruturas reprodutivas de pinheiro-manso (femininas e masculinas) verificada nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2012).....	58
Tabela 24 - Fenologia das estruturas reprodutivas de pinheiro-manso (femininas e masculinas) verificada nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2013).....	59
Tabela 25 - Contabilização de pinhas e respetiva média por árvore referentes aos 3 estádios de desenvolvimento nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2012).....	61
Tabela 26 - Contabilização de pinhas e respetiva média por árvore referentes aos 3 estádios de desenvolvimento nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2013).....	61
Tabela 27 - Fenologia e Biometria do desenvolvimento das estruturas femininas realizada em Santa Suzana desde 19 de Novembro de 2012 até 21 de Junho de 2013.	63
Tabela 28 - Biometria do desenvolvimento das estruturas masculinas realizada em Santa Suzana desde 19 de Novembro de 2012 até 21 de Junho de 2013.	65

Lista de Figuras

Figura 1 - Povoamento de pinheiro-manso na Herdade da Contenda (concelho de Moura).....	3
Figura 2 - Exemplar adulto de <i>L. occidentalis</i> com cerca de 18mm de comprimento....	9
Figura 3 - <i>Leptoglossus occidentalis</i> adulto a alimentar-se numa pinha de 3ª primavera, em Santa Suzana.	17
Figura 4 - Localização e identificação das armadilhas para captura de <i>L.occidentalis</i> no Parque Clonal de Coruche com os diferentes extratos de pinheiro-manso (2013). Estão identificados a laranja as armadilhas com extratos de flores do ano, a encarnado as armadilhas com extratos de agulhas, a verde com extratos de pinhas com 1 e 2 anos e a azul as que possuem uma mistura dos extratos anteriores.....	18
Figura 5 - Manga com indivíduos de <i>L. occidentalis</i> instalada num pinheiro do PC de Alcácer do Sal com o objetivo de estudar o ciclo de vida do inseto em condições de campo.....	20
Figura 6 - Ninfas de <i>L. occidentalis</i> do 1º instar (≈3mm de comprimento) oriundas de posturas colocadas pelos insetos do ensaio preliminar (Junho de 2012).....	21
Figura 7 - Placa de Petri correspondente ao 2º ensaio de posturas de <i>L. occidentalis</i> , provenientes de insetos adultos das mangas retiradas no PC de Alcácer do Sal e capturados em Santa Suzana (Abril de 2013). Na figura são visíveis os vários tipos de alimentos, bem como as ninfas (limite direito da placa de Petri).....	22
Figura 8 - Caixa em que foram colocadas as ninfas eclodidas da postura do 3º ensaio (Setembro de 2013), proveniente de adultos capturados no PC de Alcácer do Sal.	22
Figura 9 - Caixas onde se colocaram as ninfas de <i>L. occidentalis</i> provenientes do PC de Alcácer do Sal, para o estudo do seu ciclo de vida em condições de laboratório (21 de Agosto de 2013). Do lado esquerdo a caixa correspondente às ninfas de 4º e 5º instar e do lado direito a caixa correspondente às ninfas de 1º, 2º e 3º instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturadas mais ninfas no mesmo local e adicionadas às anteriores.....	23
Figura 10 - Caixa onde foram colocados os indivíduos da manga nº1 de Alcácer do Sal, no dia 2 de Abril de 2013.	24
Figura 11 - Caixa em que foram colocados os adultos capturados no PC de Alcácer do Sal e Comporta com o objetivo de estudar o seu ciclo de vida em condições de laboratório, nos dias 21 e 29 de Agosto, 18 de Outubro e 4 de Novembro de 2013.	24
Figura 12 - Caixa de acrílico onde foram colocados os insetos provenientes da Base aérea de Monte Real em 4 de Novembro de 2013.....	25

Figura 13 - Caixa onde foram colocados em conjunto os <i>L. occidentalis</i> adultos provenientes de Vale Feitoso e Abrantes (11 e 17 de Novembro de 2013).....	25
Figura 14 - Imagem do “Google Maps” do PC de Coruche (verde) e localização das parcelas 9 e 11 (encarnado) onde foi realizado o estudo da fenologia reprodutiva do pinheiro-manso (2012 e 2013).	27
Figura 15 - Esquema da parcela 9 do PC de Coruche com 25 árvores, das quais foram seleccionadas 20 árvores vivas. Estão identificadas com ● as árvores mortas, as árvores não enxertadas ○ e a árvore central da parcela ● (2012 e 2013).....	27
Figura 16 - Esquema da parcela 11 do PC de Coruche com 21 árvores, das quais foram seleccionadas 20 árvores vivas. Estão identificadas com ● as árvores mortas, as árvores não enxertadas ○ e a árvore central da parcela ● (2012 e 2013).....	28
Figura 17 - Imagem do “Google Maps” da área em que foi realizado o estudo da fenologia e biometria das estruturas reprodutivas do pinheiro-manso (encarnado) (2013).	29
Figura 18 e Figura 19 - Vista geral do local onde foi realizado o estudo da fenologia, biometria e ontogenia das estruturas reprodutivas do pinheiro-manso, a sul (esquerda) e norte (direita).....	29
Figura 20 - Evolução da produção anual de pinhas em Portugal entre as campanhas 2000-2001 e 2011-2012. Fonte: Empresas “Preparadora de Pinhões Lda”, “Pinhão Pais & Caixas”, “Francisco Pereira Cecílio & Filhos Lda” e “Pinhão Sado-Industria de Pinhão e Produtos Agroalimentares, Lda”.	32
Figura 21 - Rendimento anual do miolo (kg de pinhão/kg de pinha) nos últimos 18 anos. Fonte: Empresa “Preparadora de Pinhões, Lda” (representa 60% do mercado nacional) e “António Pais Lda”.	33
Figura 22 - Relação entre a Produção e o Rendimento para o período de 12 campanhas (2001 a 2012). Fonte: Empresa “Preparadora de Pinhões, Lda.” (representa 60% do mercado nacional) e “António Pais Lda”.	34
Figura 23 e Figura 24 - Peso verde (g) (esquerda) e número total de pinhões (direita) por distrito e por campanha (2010-2011 e 2011-2012).....	36
Figura 25 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “peso verde”.	36
Figura 26 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “número total de pinhões”.	37
Figura 27 - Percentagem de pinhões vazios por distrito e por campanha (2010-2011 e 2011-2012).	38
Figura 28 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhões vazios”.	38

Figura 29 - Pinhões vazios dentro de uma pinha de 3ª primavera em corte longitudinal (setas encarnadas).	39
Figura 30 - Relação entre o “número total de pinhões” e a “percentagem de pinhões vazios” nos diferentes distritos para as duas campanhas analisadas.	40
Figura 31 - Percentagem de pinhas com <i>D. pinea</i> nos diferentes distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011-2012.	41
Figura 32 - ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “Percentagem de pinhas com <i>D. pinea</i> ”	41
Figura 33 - Percentagem de pinhas com <i>P. validirostris</i> nos diferentes distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011- 2012.	42
Figura 34 - Médias estimadas por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhas com <i>P. validirostris</i> ”	42
Figura 35 - Percentagem de pinhas com <i>D. mendacella</i> nos 5 distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011- 2012.	43
Figura 36 - Médias estimadas por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhas com <i>D. mendacella</i> ”.	44
Figura 37 - Médias estimadas por ANOVA a um fator (Teste LSD) efetuada para a variável “número de dias para a eclosão”.	47
Figura 38 - Evolução das ninfas eclodidas no 1º ensaio de posturas (24 de Junho de 2012), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.	49
Figura 39 - Evolução das ninfas eclodidas no 1º ensaio de posturas (29 de Abril de 2013), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.	50
Figura 40 - Evolução das ninfas eclodidas no 3º ensaio de posturas (20 de Setembro de 2013), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.	50
Figura 41 - Evolução das ninfas de 1º, 2º e 3º instar capturadas no PC de Alcácer do Sal no dia 21 de Agosto de 2013, em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturados mais 7 indivíduos de 1º instar, 24 de 2º instar e 6 de 3º instar, os quais foram colocados em conjunto com os anteriores.	51
Figura 42 - Evolução das ninfas de 4 e 5º instar capturadas no PC de Alcácer do Sal no dia 21 de Agosto de 2013, em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturadas mais 9 ninfas de 4º instar e 6 ninfas de 5º instar, as quais foram colocadas em conjunto com as anteriores.	52
Figura 43 - Evolução dos indivíduos adultos provenientes das mangas do PC de Alcácer do Sal (2 de Abril de 2013) e dos insetos capturados em Santa Suzana (29 de Abril de 2013).	53

Figura 44 - Evolução dos indivíduos adultos de <i>L. occidentalis</i> capturados no PC de Alcácer do Sal e Comporta (início a 21 de Agosto de 2013). No dia 29-08-2013 foi capturado 1 indivíduo adulto no PC de Alcácer do Sal e nos dias 18-10-2013 e 4-11-2013 foram capturados 8 indivíduos na Comporta (4 em cada dia), os quais se colocaram em conjunto com os anteriores.....	53
Figura 45 - Desenvolvimento dos indivíduos de <i>L. occidentalis</i> em condições de laboratório desde o dia 24 de Junho de 2012 até ao dia 5 de Setembro de 2012, sob forma de percentagem.	54
Figura 46 - Desenvolvimento dos indivíduos de <i>L. occidentalis</i> (ninfas e adultos) em condições de laboratório desde o dia 12 de Maio de 2013 até ao dia 3 de Dezembro de 2013, sob forma de percentagem.....	55
Figura 47 - Gráfico correspondente às medições efetuadas no comprimento do estilete (mm), comprimento do corpo (mm) e respetivo rácio (Ra) (comp. estilete / comp. corpo) nos vários estádios de desenvolvimento de <i>L. occidentalis</i>	57
Figura 48 - Ninfa do 2º instar onde se pode observar que o comprimento do estilete (7,5 mm) (encurvado na imagem) ultrapassa o tamanho do corpo (4,5mm).	58
Figura 49 - Número de árvores com pinhas de 1ª; 2ª e 3ª primaveras na parcela nº 9 do PC de Coruche (2012 e 2013).....	60
Figura 50 - Número de árvores com pinhas de 1ª; 2ª e 3ª primaveras na parcela nº 11 do PC de Coruche (2012 e 2013).....	60
Figura 51 - Número total de estróbilos femininos de 1ª primavera (2012) e 2ª primavera (2013) e média por árvore das parcelas 9 (esquerda) e 11 (direita) do PC de Coruche.....	62
Figura 52 - Número total de estróbilos femininos de 2ª primavera (2012) e 3ª primavera (2013) e média das parcelas 9 (esquerda) e 11 (direita) do PC de Coruche.	62
Figura 53 - Relação comprimento/largura das pinhas colhidas em Santa Suzana. O estudo iniciou no dia 19 de Novembro de 2012 e terminou no dia 27 de Junho de 2013.	64
Figura 54 - Cortes histológicos realizados nas estruturas reprodutivas do pinheiro-manso. Sendo, Sp - saco polínico; Gp - Grão de pólen, constituído pelo corpo e por duas asas (sacci); O - Óvulo; M - Megasporângio; Bm - Braço do micrópilo; T - Tegumento; Cm - Célula mãe do megásporo; E - Escama; Cp - Câmara polínica; G - Gametófito.	66
Figura 55 - Distância do óvulo à superfície em pinhas de 1ª, 2ª e 3ª primavera no dia 24 de Abril de 2013. Sendo, 1 - Numa pinha de 1ª primavera a distância é de 500,4 µm	

(0,5004mm); 2 - Numa pinha de 2ª primavera, cerca de 2,2mm; 3 - aproximadamente 5mm nas pinhas de 3ª primavera.67

Figura 56 - Modelo de evolução fenológica da floração feminina, masculina e pinhas em *P. pinea* com base nos estados fenológicos das flores/pinhas verificados no PC de Coruche e reproduzidos para os anos de 2013 a 2015. Sendo, Floração - Altura em que as estruturas reprodutoras femininas se encontram maduras e aptas a receber o gâmeta masculino (pólen); Polinização - Altura em que as estruturas reprodutoras masculinas se encontram maduras e aptas a fecundar o gâmeta feminino; Estado quiescente - Altura em que as pinhas se encontram num estado de letargia e apresenta um crescimento bastante lento; Estado ativo - Altura em que as pinhas entram em crescimento acelerado; Maturação embrião - Altura em que dá a maturação dos embriões (pinhões).75

Figura 57 - Modelo de evolução fenológica das estruturas reprodutivas femininas em *P. pinea* e ciclo de vida do *Leptoglossus occidentalis* de Março a Outubro, época em que estes se encontram ativos.....77

Lista de símbolos e abreviaturas

A.S. - Alcácer do Sal
AFN - Autoridade Florestal Nacional
ANOVA - Análise de variância
APFC - Associação dos Produtores Florestais do Concelho de Coruche
BASF - Badische Anilin und Soda-Fabrik
CL - Corte longitudinal
comp. - comprimento
Cor - corpo
CSF - Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos
D. mendacella - *Dioryctria mendacella*
D. pinea - *Diplodia pinea*
EN4 - Estrada Nacional 4
EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization
Est - estilete
gl - graus de liberdade
H. - Herdade
i.é. - isto é
ICNF - Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas
Inst. - instar
L. occidentalis - *Leptoglossus occidentalis*
LSD - Least Significant Difference
M.N. - Monte Novo
∅ - diâmetro
P. validirostris - *Pissodes validirostris*
p.f. - ponto de fusão
PC - Parque Clonal
Ra - rácio
S. - Santiago
St. - Santa
Sto. - Santo
 \bar{x} - média

1. Introdução

O pinheiro manso *Pinus pinea* L., é uma espécie tipicamente mediterrânica e ecologicamente importante pela diversidade de espécies que lhe estão associadas. Do ponto de vista económico e social, a espécie é também importante pelo seu interesse produtivo, paisagístico, cinegético e recreativo. Em Portugal distribui-se essencialmente no Alentejo, Algarve, Ribatejo e Estremadura (Sousa *et al.*, 2012), aparecendo muitas vezes em consociação com o sobreiro *Quercus suber* L.. Está fundamentalmente ligado, do ponto de vista económico, à produção de madeira, de resina ou de pinhão, sendo esta última, a que apresenta atualmente maior rentabilidade.

Face ao interesse da produção de fruto destes povoamentos florestais, a sua gestão tem vindo a ser gradualmente adaptada. O pinhal manso comporta atualmente povoamentos jardinados, de baixas densidades, em que as árvores na sua plena produção apresentam grandes copas e chegam a atingir cerca de 1000 pinhas por árvore, assim como povoamentos equiénios, resultantes dos diferentes projetos de arborização financiados pelos vários Quadros Comunitários de Apoio.

Em termos sanitários o Pinheiro manso é uma árvore bastante resistente, conhecendo-se poucos agentes nocivos que causem estragos relevantes neste hospedeiro. No entanto, as atuais perdas na produção e rendimento alertou para os possíveis impactes de agentes nocivos. Em particular estão associadas aos ataques das pinhas e pinhão, três insetos - o gorgulho das pinhas *Pissodes validirostris* Gyll., a lagarta das pinhas *Dioryctria mendacella* Stgr.e o inseto sugador das pinhas *Leptoglossus occidentalis* Heid. (este último detetado em Portugal no ano de 2010) e de um fungo - *Diplodia pinea* Kickx) (syn. *Sphaeropsis sapinea*). No entanto os impactes efetivos destes vários agentes não foram ainda devidamente quantificados. Dados de Itália referem que os estragos provocados por *Leptoglossus occidentalis* originaram perdas acentuadas na produção/rendimento nos anos seguintes à sua introdução no país, o que pode ter acontecido igualmente em Portugal.

Leptoglossus occidentalis é uma espécie exótica originária da América do Norte e que foi recentemente detetada em Portugal (2010) (Grosso-Silva, 2010; Sousa & Naves, 2011). Devido à extrema importância em perceber o seu ciclo de vida e potenciais estragos e prejuízos para a fileira do pinheiro manso, esta espécie mereceu um especial relevo ao longo deste trabalho.

O presente trabalho tem como objetivo o estudo da bioecologia e previsão de impacto económico em Portugal provocado pelo inseto sugador das pinhas. Contudo dada a insuficiência de dados existentes foi necessário efetuar em primeiro lugar a

análise da produção de pinhão nos últimos anos e relacionar a sua evolução com a possível incidência de agentes bióticos. Para tal fez-se uma análise das taxas de incidência de ataque das pinhas por diversos organismos. Complementarmente uma revisão da biologia e ciclo de vida das diferentes pragas e doenças, em particular do gorgulho das pinhas, da lagarta das pinhas, do *dieback* do pinheiro foi também efetuada. Para o inseto sugador das pinhas procurou-se desenvolver metodologias de monitorização no campo e de criação de estudo laboratorial. Paralelamente, realizou-se um estudo da fenologia reprodutiva do pinheiro-manso de modo a perceber a sua biologia e relação com a produção de pinhão e com as diferentes pragas e doenças.

O trabalho apresenta os seguintes objetivos específicos:

- i) Avaliar a incidência das diferentes pragas e doenças afectando as pinhas do pinheiro-manso, o seu peso relativo e o seu potencial impacto na produção de pinhão;
- ii) Estudar a evolução da produção de pinhão nos últimos dez anos e analisar os padrões da sua evolução;
- iii) Conhecer a fenologia reprodutiva do pinheiro manso.
- iv) Relacionar a fenologia reprodutiva do pinheiro manso com o ciclo de vida de *L. occidentalis*;
- v) Estimar densidades das populações e possíveis estragos que poderão ser causados por *L. occidentalis* no nosso País.

2. Enquadramento do tema

2.1. O pinheiro-manso e a sua importância económica

2.1.1. Biologia reprodutiva

O pinheiro-manso é uma gimnospérmica resinosa da família *Pinaceae* que atinge 10-25m de altura, com uma copa ampla, arredondada e geralmente em forma de guarda-sol nos indivíduos adultos (Fady *et al.*, 2004; Montero *et al.*, 2004) (Fig. 1). É uma espécie monóica, heterosporófica, alogâmica e de polinização essencialmente anemófila onde a floração ocorre na Primavera, de fins de Março a início de Junho. Para a completa maturação da semente são necessárias três estações de crescimento, (cerca de 30 meses) (Montero *et al.*, 2004; Francini, 1958).



Figura 1 - Povoamento de pinheiro-manso na Herdade da Contenda (concelho de Moura).

As flores unissexuadas apresentam-se em pinhas/cachos masculinas (amentilhos) e femininas (estróbilos). As flores masculinas localizam-se geralmente na parte inferior da copa, apresentando uma coloração amarelo-dourada e a forma de uma espiga (cacho polínico) (Fady *et al.*, 2004, Montero *et al.*, 2004). A floração feminina ocorre essencialmente na metade superior e distal da copa, à semelhança do pinheiro-bravo *Pinus pinaster* Ait. (Varela, 1989).

2.1.2. Distribuição geográfica e fatores limitantes

P. pinea é uma espécie tipicamente mediterrânica com uma área natural estendendo-se por diferentes países da Europa Meridional (Portugal, Espanha, França, Itália, Albânia, Croácia, Bósnia e Grécia), da Ásia (Turquia, Israel, Líbano e Síria) e países do norte de África (Fady *et al.*, 2004; Martinez *et al.*, 2004). É heliófila com pouca tolerância ao frio. Em Portugal ocorre em altitudes inferiores a 700m. O seu ótimo pluviométrico situa-se entre os 400 e 800mm, mas pode ocorrer em zonas com precipitações anuais inferiores a 350mm (Martinez *et al.*, 2004; Costa & Evaristo, 2008).

O pinheiro-manso é uma conífera importante no cenário florestal português nos aspetos económico e ambiental. Atualmente ocupa uma área de 175 742 ha (ICNF, 2013) e a sua importância económica deve-se essencialmente ao pinhão, um produto florestal não-lenhoso.

Está distribuído por todo o país, mas é a sul do Tejo nos podzóis derivados de paleodunas plio-pleistocénicas ou mesmo arenossolos de origem holocénica que se encontram as áreas mais importantes, nomeadamente na zona que vai de Alcácer do Sal a Grândola. É uma espécie pouco exigente que se adapta a quase todos os tipos de solos à exceção dos que tenham má drenagem interna, hidromorfismo ou calcário ativo (Costa & Evaristo, 2008; Montero *et al.*, 2004).

Devido à sua capacidade de adaptação a vários tipos de solos, à redução das áreas agrícolas, e à disponibilização de ajudas financeiras por parte da União Europeia, houve um grande aumento do interesse da sua exploração nos últimos anos (Carneiro, 2005). As plantações têm em geral altas taxas de sobrevivência, em torno dos 80-90% (Carneiro *et al.*, 2007). O interesse pelo pinheiro-manso está patente no aumento de área entre 1995 e 2010 em 54% em termos de superfície arborizada e 46% em superfície total (ICNF, 2013).

O distrito de Setúbal é o que apresenta melhores condições edafo-climáticas para o pinheiro-manso (Evaristo *et al.*, 2002), sendo responsável por cerca de 62% da área total de pinheiro-manso e 50% da produção nacional de pinha. Os maiores povoamentos para a produção de pinhão encontram-se nos concelhos de Alcácer do Sal e Grândola, sendo aqui obtido um dos maiores rendimentos e a melhor qualidade de pinha e pinhão do país (Costa & Evaristo, 2008).

2.1.3. A importância económica do pinheiro-manso

A exploração do pinheiro manso é muito antiga, sendo os principais produtos a madeira, a resina e o pinhão (Costa & Evaristo, 2008). A produção de madeira e a resinagem têm nos dias de hoje pouca importância na fileira do pinheiro-manso, pelo

que o recurso de maior interesse económico atual é o pinhão. Este produto atinge preços elevados por quilograma (miolo) no mercado nacional e internacional, sendo cerca de 90% da produção nacional exportada. Contudo, nos últimos anos o mercado do pinhão português está a sofrer uma forte concorrência com pinhão de outras espécies de *Pinus* originário de países asiáticos, com preços de venda ao público e qualidade bastante inferiores, levantando algumas dificuldades na sua exportação (Carneiro, 2005; Costa & Evaristo, 2008; Barriguinha *et al.*, 2004).

Como medidas estratégicas para manter a competitividade do mercado do pinhão, indica-se a otimização dos métodos de colheita, em termos de mão-de-obra e maquinaria, e tornar mais eficaz a produção de pinhão utilizando técnicas mais evoluídas e mais recentes de gestão e condução de povoamentos. O melhoramento genético e a seleção de árvores boas produtoras de pinhão são também essenciais, embora os resultados sejam mais lentos (Carneiro *et al.*, 2007).

A madeira do *P. pinea* foi em tempos bastante utilizada na construção naval, como por exemplo nas naus da época dos Descobrimentos, sendo atualmente apenas utilizada em pequenos estaleiros artesanais. A resinagem é outro produto que entrou em declínio de produção devido ao elevado custo da mão-de-obra, tornando-a pouco rentável, apesar de ter um alto teor de limoneno (85%) apreciado pela indústria de perfumaria (Costa & Evaristo, 2008).

O pinheiro-manso é uma espécie que gera emprego rural e que tem grande valor ornamental, podendo ser utilizado com sucesso na proteção dos solos, na fixação de dunas, como abrigo de ventos marítimos e como pioneira de outras espécies, como é o caso do sobreiro e da azinheira *Quercus rotundifolia* L. (Costa & Evaristo, 2008). Pode ainda ser gerido em agro-silvo-pastorícia e é importante na produção de cogumelos (Costa & Evaristo, 2008).

Os povoamentos de pinheiro-manso são também importantes em termos de biodiversidade proporcionando boas condições para a fauna cinegética, refúgio de aves migratórias e de alguns mamíferos selvagens, que se podem traduzir em mais-valia em termos de pagamentos de serviços do ecossistema (Costa & Evaristo, 2008; Carneiro, 2005).

2.1.3.1. A produção de pinhão

A produção de pinhão está ligada a vários fatores: clima, características genéticas, idade da árvore, qualidade da estação, estado fitossanitário, densidade e tipo de condução do povoamento (Carneiro *et al.*, 2007).

A partir dos 15-20 anos já é possível obter uma quantidade de pinhas, em pinheiro manso, suficiente para compensar a sua colheita, no entanto, através da

enxertia é possível obter uma quantidade de pinhas rentável a partir de idades jovens (8-10 anos). A produção aumenta até aos 40-50 anos e na idade ótima para produção é possível obter uma média de 100 a 120 pinhas por árvore, havendo exemplares com produções superiores a 500 pinhas no concelho de Alcácer do Sal (Carneiro *et al.*, 2007). A espécie apresenta anos de safra e contra-safra que pode ser de 3 em 3 anos (Carneiro *et al.*, 2007) ou de 4 em 4 anos (Pinheiro *et al.*, 2003).

Segundo os industriais do setor, estima-se que a produção nacional de pinhas é, em média, de 60 a 70 milhões, correspondendo a 600-700 toneladas de miolo de pinhão, com alterações por vezes acentuadas. Na sua grande maioria este pinhão é exportado para Espanha e Itália (Costa & Evaristo, 2008). Ao longo dos últimos anos a produção deste produto tem sofrido algumas oscilações, tal como irá ser analisado no ponto §4.1.1. No geral, registou-se uma descida de 120 milhões de Kg de pinha em 2010 para 25 milhões de Kg em 2011 - menos 79%, a que corresponderam 4 milhões de Kg e 500 mil Kg de pinhão, respetivamente, ou seja, menos 87,5% (Sousa *et al.*, 2012).

A apanha da pinha pode ser efetuada manualmente, mas devido à sua dificuldade introduziram-se recentemente alguns equipamentos mecanizados com o objetivo de rentabilizar este procedimento. No entanto, estes equipamentos, de elevada massa por eixo e com grande potência, revelaram-se inadequados devido aos severos estragos que causam nas árvores, principalmente ao nível das futuras colheitas. Recentemente surgiram no mercado equipamentos de vibração que utilizam como fonte de potência o trator agrícola, sendo mais eficazes e otimizados (Barriguinha *et al.*, 2004).

Apesar de ao longo do tempo assistirmos a uma melhoria das técnicas de produção e colheita de pinhas, estas inovações poderão ser comprometidas por fatores bióticos, em particular de insetos e fungos, que poderão afetar direta e indiretamente a produção de pinhão.

2.2. As pragas e doenças do pinheiro-manso

Em termos sanitários o pinheiro-manso é uma árvore bastante resistente, contudo, existem vários agentes bióticos que podem colonizá-lo. Entre as pragas ou doenças que afetam a espécie, os mais relevantes são aqueles que de alguma forma afetam a produção de pinhão. As pragas podem causar vários tipos de estragos diretos: desidratação e queda das pinhas, impedimento da abertura da pinha e consequentemente da saída dos pinhões e destruição total ou parcial dos pinhões (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007; Sousa, 2012). Indiretamente podem também ser responsáveis pela diminuição da produção de pinhão através da queda

das agulhas e lesões ao nível do tronco, ramos e raminhos. As doenças podem originar seca e queda das agulhas, cancrios em várias partes da árvore, desidratação dos gomos e das pinhas e em alguns casos de maior incidência, a morte da árvore (Sousa *et al.*, 2007; Sousa, 2012).

Atualmente as duas espécies de pragas nativas mais importantes e que causam mais prejuízos na produção de pinhão são o gorgulho das pinhas, a lagarta das pinhas e o patógeno *dieback* do pinheiro, apesar de os seus estragos ainda não se encontrarem devidamente quantificados. Existem igualmente outras pragas e doenças que, indiretamente, provocam estragos na produção de pinhão e que serão posteriormente abordadas.

2.2.1. A lagarta das pinhas *Dioryctria mendacella*

Dioryctria mendacella é um lepidóptero da família *Pyrallidae* que se distribui ao longo de toda a Europa Mediterrânica, Turquia, Arménia, Palestina, Paquistão e China. Tem como plantas hospedeiras o *P. pinea*, o *Pinus pinaster*, o *Pinus halepensis* Mill., o *Pinus brutia* Ten. e o *Pinus nigra* Arnold (Ferreira & Ferreira, 1990).

O inseto adulto apresenta uma envergadura de 26-30 mm, tendo asas de cor cinzento-pérola e uma coloração geral cinzenta. Os ovos são pequenos e esbranquiçados. A larva consegue atingir 18-22mm de comprimento no seu estado mais avançado, a cabeça é castanho-escuro e o corpo apresenta uma coloração rósea na face dorsal. A pupa é castanho-avermelhada e insere-se num casulo formado por sedimentos e fios sedosos (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007).

Apresenta duas gerações anuais sobrepostas, sendo a primeira na primavera e a segunda no final do verão. Os adultos efetuam as posturas na superfície das pinhas em formação e as larvas recém-nascidas constroem um orifício de forma irregular, de forma a penetrarem na pinha. Durante este período é possível verificar exsudações de resina e excrementos de larvas em aglomerados à superfície das pinhas afetadas. Quando atingem a maturidade deixam-se cair no solo e iniciam a fase de pupa na folhada. É comum as pinhas afetadas apresentarem-se subdesenvolvidas, com deformações, galerias de larvas no seu interior e, em casos extremos, totalmente destruídas (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007; Navarro, 2011; Costa & Evaristo, 2008).

2.2.2. O gorgulho das pinhas *Pissodes validirostris*

Pissodes validirostris é um coleóptero da família *Curculionidae* que se distribui por todos os países da Europa mediterrânica e a leste desde a Rússia à Turquia. Entre as plantas hospedeiras contam-se o *P. pinea*, o *P. pinaster* e o *P. halepensis* (Ferreira

& Ferreira, 1990). O adulto tem cerca de 4-8mm comprimento, apresenta uma coloração castanho-avermelhada e vários pelos acinzentados em forma de escamas. Ao longo do seu tórax é visível uma faixa de cor branca e duas pequenas manchas laterais da mesma cor. Os ovos são esbranquiçados e de forma elíptica. As larvas possuem igualmente uma coloração esbranquiçada e atingem um comprimento de 7-8mm no seu estado mais avançado. Após a eclosão, a cabeça da larva apresenta uma tonalidade alaranjada e à medida que vai crescendo, torna-se castanho-escura (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007).

O gorgulho ataca as pinhas no seu 2º ano (Ferreira & Ferreira, 1990) e apresenta uma geração anual. Os adultos apresentam dois picos populacionais na primavera e no final do verão e as larvas estão ativas nas mesmas épocas (Sousa *et al.*, 2012; Navarro, 2011). Os adultos emergem na sua maioria no Outono, hibernando na base do tronco, nas fendas existentes ao longo da casca e na folhada, sendo que uma parte das pupas hiberna até à Primavera ou Verão do ano seguinte. Depois de atingirem a fase adulta e em conjunto com os adultos hibernantes, retornam para as copas onde se alimentam de raminhos e pinhas jovens (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007; Costa & Evaristo, 2008).

No exterior das pinhas atacadas por esta espécie é visível uma tonalidade acastanhada e exsudações de resina, colando as escamas e impedindo a saída dos pinhões que não foram destruídos e reduzidos a serrim pelas larvas. No interior da pinha encontram-se larvas ápodas e galerias que contêm excrementos finos, resina e serrim. Os adultos emergem da pinha através de orifícios de forma circular, com 2,5mm de diâmetro na base das escamas. Ao contrário da lagarta das pinhas, o gorgulho completa o seu desenvolvimento no interior da pinha (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007; Costa & Evaristo, 2008).

2.2.3. O sugador das pinhas *Leptoglossus occidentalis*

L. occidentalis é um inseto nativo da América do Norte, que se dispersou para áreas mais orientais e para sul do continente americano através do comércio (Fig. 2). Hoje pode ser encontrado em quase todas as regiões do Canadá e Estados Unidos da América. A espécie foi detetada pela primeira vez na Europa em Itália, em 1999 (Jacobs, 2010; Sousa *et al.*, 2012; Bernardinelli *et al.*, 2006). Este encontrou condições propícias ao seu desenvolvimento e rapidamente disseminou-se por toda a Europa. Foram encontrados espécimes na Suíça em 2002, Espanha e Eslovénia em 2003, Croácia e Hungria em 2004, Áustria em 2005, Alemanha, Eslováquia, França, República Checa e Sérvia em 2006, Bélgica, Reino Unido e Polónia em 2007,

Montenegro, Bulgária e Polónia em 2008 (EPPO, 2010) e mais recentemente na Dinamarca, Turquia e Noruega (Sousa *et al.*, 2012).



Figura 2 - Exemplar adulto de *L. occidentalis* com cerca de 18mm de comprimento.

Após a espécie ser detetada em Espanha, foram registados vários avistamentos em localidades como Madrid, Jaén e Múrcia (EPPO, 2010). Aqui estava comprovado que se estava dispersar pela Península Ibérica e que existia uma forte probabilidade de chegar a Portugal. Em Outubro de 2010 foi detetado pela primeira vez em Portugal, sendo encontrados exemplares em simultâneo na península de Tróia (povoamento dominado por pinheiro-bravo, com alguns pinheiros-mansos) e no norte de Portugal (povoamentos constituídos por pinheiro-bravo) (AFN, 2012). Atualmente parece distribuir-se de norte a sul do país, tendo em conta as deteções realizadas após 2010 em povoamentos de pinheiro manso, pinheiro bravo e mistos. No entanto, ainda não se comprovou que a espécie afeta os pinhões de pinheiro-manso de maneira a originar declínios na sua produção.

Na sua região de origem e na Europa *L. occidentalis* afeta várias espécies de coníferas, em particular os géneros *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Cedrus*, *Juniperus*, e *Pseudotsuga*, assim como *Pistacia* (AFN, 2012; Sousa *et al.*, 2012). O seu nome em inglês, “Leaf-footed bug”, deriva da sua forma de folha achatada das patas anteriores (Reid *et al.*, 2009). O inseto adulto apresenta um comprimento de 16-20mm e 5-7mm de largura, exibindo uma coloração geral acastanhada (Reid *et al.*, 2009; Sousa & Naves, 2011). A face superior do abdómen possui uma cor amarelo-alaranjada com 5 linhas negras e transversais. Os élitros anteriores são acastanhados e contêm uma risca branca em zig-zag.

Os ovos medem cerca de 1-2mm de comprimento por 0,3-0,8mm de largura e são colocados em posturas na página inferior das agulhas. Apresentam uma coloração bronze e castanho-clara e vão ficando mais escuros à medida que o embrião se desenvolve.

A espécie apresenta cinco fases ninfais. Nos dois primeiros instares o inseto apresenta uma coloração alaranjada, no terceiro uma cor vermelho-castanhada e nos dois últimos uma tonalidade castanha, mais escura no 5º e último instar. As ninfas medem entre 2,5-3,5mm no primeiro instar até cerca de 11-13mm no quinto instar.

É um inseto relativamente ágil e quando se sente ameaçado liberta um odor muito característico, bastando alguma aproximação ou vibração para se colocar em posição de fuga. Em voo produz um zumbido semelhante ao de uma abelha e exhibe um padrão acastanhado muito característico (Klass, 2002; Jacobs, 2010; Reid *et al.*, 2009).

Apresenta uma armadura bucal picadora-sugadora e o estilete mede cerca de 2,5-3mm no primeiro instar juvenil e 11,5-13,5mm na fase adulta. Este permite-lhe penetrar entre as escamas dos estróbilos femininos para sugar o conteúdo das sementes, causando a sua inviabilidade. Desta alimentação não resultam estragos visíveis à superfície da pinha. No caso de espécies com o objetivo de produção de fruto, como o pinheiro-manso, e na eventualidade de afetar os pinhões em desenvolvimento, acarreta diretamente graves prejuízos económicos.

Em regiões com temperaturas médias mais elevadas é comum apresentar mais do que uma geração anual, como no caso do México e Itália, onde ocorrem duas a três gerações por ano (Sousa *et al.*, 2012). Nas zonas onde é nativo verifica-se apenas uma geração por ano. Na altura da Primavera os adultos emergem dos esconderijos onde hibernam durante o Inverno e rapidamente começam a alimentar-se (Jacobs, 2010). Cada fêmea coloca cerca de 80 ovos e eclodem passados 10 a 14 dias (Reid *et al.*, 2009; Jacobs, 2010). Nos primeiros instares, as ninfas alimentam-se de agulhas, de tecidos tenros dos estróbilos femininos e das sementes que estão em desenvolvimento (Sousa *et al.*, 2012; Malumphy *et al.*, 2008). É comum as ninfas atingirem a fase adulta no verão, altura em que facilmente se vislumbram os novos adultos e ninfas que ainda não completaram o seu desenvolvimento a alimentarem-se em conjunto (Jacobs, 2010; Malumphy *et al.*, 2008). No Outono os adultos procuram locais onde hibernar e no inverno procuram refúgio na madeira seca, debaixo da casca ou dentro de ninhos de espécies de vertebrados (Jacobs, 2010; Malumphy *et al.*, 2008).

Este inseto entra em conflito com o Homem quando procura hibernar no interior de habitações humanas (Reid *et al.*, 2009; Jacobs, 2010). Nos Estados Unidos da

América a espécie causa severos estragos em sementes de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) (Rei *et al.*, 2009). Na Europa ainda não se registaram estragos provocados pelo inseto.

2.2.3.1. Métodos de captura e controlo de *L. occidentalis*

Vários métodos têm vindo a ser testados para controlar a espécie mas até à data ainda não existe um método realmente eficaz para o efeito.

Uma das formas mais comuns de monitorização e controlo de pragas é através do uso de feromonas. Em 1996, Blatt & Borden descobriram uma feromona de agregação para a espécie, apesar de a molécula ainda não ter sido identificada. Posteriormente foi descoberta uma feromona de alarme para os adultos e ninfas mas apresenta a desvantagem de ter um efeito pouco duradouro e específico (Sousa *et al.*, 2012). A monitorização e controlo do *L. occidentalis* podem ainda ser realizados através de armadilhas que emitem radiação infravermelha, encontrando-se estas ainda em fase de teste. São conhecidas as frequências em que os machos emitem um sinal de banda-larga, na ordem dos 20dB (acima do som ambiente) e com um padrão temporal distinto (Sousa *et al.*, 2012).

Em relação à luta biológica, estão a ser realizados estudos em Itália para um programa de controlo biológico através do parasita oófago *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead) (Hymenoptera, família Platygasteridae) (Sousa *et al.*, 2012). Na luta química, foram elaborados protocolos de colaboração com multinacionais do sector químico (BASF, Syngenta e Bayer) para testar a aplicação de inseticidas. Apesar de não haver disponibilização de pesticidas homologados contra a espécie, no Canadá é permitida a aplicação de dimetoato ou carbaril para controlo de outras pragas, podendo indiretamente controlar o *L. occidentalis* (Sousa *et al.*, 2012).

2.2.4. O Dieback do pinheiro *Diplodia pinea*

O fungo causador de *Dieback* do pinheiro é uma espécie que se distribui a nível mundial e que afeta mais de 30 espécies do género *Pinus* e outras coníferas, podendo originar graves perdas económicas.

Dispersa-se através do vento e da chuva na altura da primavera, podendo também ser propagada através de insetos, incluindo o inseto sugador das pinhas *L. occidentalis* (Luchi *et al.*, 2011).

É uma espécie que apresenta maior incidência quando existem condições de seca e outros fatores de stress presentes nas árvores (Doğmuş-Lehtijärvi *et al.*, 2009; Flowers *et al.*, 2001; Desprez-Loustau *et al.*, 2006). Afeta normalmente indivíduos com idades mais avançadas e raramente indivíduos jovens e vigorosos, podendo causar

reduções no crescimento e morte de árvores quando a infeção persiste ao longo dos anos (Mulrooney, 2004). No inverno o fungo hiberna nas frutificações existentes nas agulhas mortas, ramos e pinhas sob a forma assexuada (picnídios). Na época da primavera e início do verão o fungo liberta os esporos, afetando novos ramos, e origina o avermelhamento, curvatura e morte dos ápices da árvore. Se existirem condições de humidade e temperatura favoráveis, infecta a árvore na sua totalidade. É possível verificar frutificações e gotas de resina nas partes afetadas, cancos nos ramos/raminhos e nas raízes e manchas azuladas na madeira cortada (Sousa *et al.*, 2007; Flowers *et al.*, 2001). Ao infetar as pinhas causa um decréscimo de pinhões comestíveis, originando uma diminuição da qualidade do pinhão e consequentemente uma diminuição na sua produção.

2.2.5. Outras doenças e pragas

Existem outras doenças que afetam o pinheiro-mansinho como a desfoliação *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar, um fungo comum em viveiros e plantações que provoca manchas nas agulhas e origina a sua seca. O bolor cinzento *Botrytis cinerea* Pers.:Fr é outro fungo comum em viveiros e plantações, que ao encontrar condições temperatura e humidade ideais, reproduz-se nas agulhas e raminhos e pode levar à morte da árvore infetada. A doença dos anéis vermelhos *Dothistroma spp.* causa reduções no crescimento da árvore ao afetar as agulhas, originando manchas vermelhas, engrossamento e queda das mesmas (Sousa *et al.*, 2007).

Em relação a outras pragas, a torcedoura *Rhyacionia buoliana* Schiff. é um inseto comum nos povoamentos de pinheiro-mansinho que se alimenta dos rebentos e gomos, tanto florais como vegetativos, causando a deformação nos ramos/ápices e a consequente redução de produção de pinhas (Ferreira & Ferreira, 1990; Sousa *et al.*, 2007). Uma espécie que pode causar severas desfolhas é a processionária do pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Este é um lepidóptero que leva à diminuição da capacidade fotossintética da árvore e, em casos de incidência extrema, à sua morte. Outra espécie que se alimenta das agulhas é o afídeo lanígero do pinheiro *Pineus pini* Macquart, um afídeo que é responsável por descolorações, seca e morte de rebentos jovens e agulhas. As hilésinas, *Tomicus piniperda* L. e *Tomicus destruens* Woll., e o bóstrico grande *Ips sexdentatus* Boern. são escolitídeos também importantes nos povoamentos de pinheiro-mansinho, provocando estragos nos ramos, raminhos e na zona subcortical, podendo levar à morte da árvore (Sousa *et al.*, 2007).

Além das espécies referidas acima, existem outras que podem vir a ser introduzidas acidentalmente em novas regiões, através da circulação de produtos

florestais, e se encontrarem condições propícias ao seu desenvolvimento, fixam-se e podem originar estragos económicos avultados.

3. Materiais e Métodos

3.1. Produção de Pinhão em Portugal

3.1.1. Quantificação da produção e rendimento da pinha/pinhão

Para a avaliação da produção anual de pinha em 2011 e 2012, realizou-se o levantamento das principais indústrias transformadoras que operam em Portugal e dos postos de receção de pinhas mais importantes. Foi estabelecida uma base de dados com a identificação da empresa e regiões de produção de onde foi rececionado o material, bem como a quantidade e destino.

Na tentativa de se estudar a evolução de produção de pinhão nos últimos anos, foi recolhida informação junto das principais fábricas e unidades de receção de pinhas, nomeadamente as empresas “Preparadora de Pinhões Lda”, “Pinhão Pais & Caixas”, “Francisco Pereira Cecílio & Filhos Lda” e “Pinhão Sado-Industria de Pinhão e Produtos Agroalimentares, Lda”, nas últimas 12 campanhas.

Tal como para a avaliação da produção, foi realizado o levantamento de dados referentes ao rendimento de pinha/pinhão nas campanhas de 2010/2011 e 2011/2012. De seguida procedeu-se de igual forma para os últimos 18 anos junto de duas das principais indústrias transformadoras (“Preparadora de Pinhões Lda”, que representa 60% do mercado nacional, e “António Pais Lda”) com o objetivo de conhecer o rendimento da pinha/pinhão.

3.1.2. Estudo do impacte e identificação dos agentes bióticos na produção de pinha/pinhão (campanhas de 2010/2011 e 2011/2012)

Para o efeito foi feita a colheita aleatória de pelo menos 10 pinhas (sempre que possível) provenientes de cada um dos principais distritos produtores de pinhão a nível nacional (Santarém, Setúbal, Évora, Portalegre e Viseu) junto das principais unidades de receção de pinhas, entre Dezembro e Março de cada campanha. Cada amostra foi acompanhada de uma ficha com o máximo de informação possível (Tabela 1 e 2). Em laboratório foi feita a avaliação das pinhas. Nas pinhas com estragos procedeu-se à identificação dos agentes bióticos que afetaram a produção de pinhões.

Dada a ausência de sintomas específicos associados aos ataques de *L. occidentalis*, só foi possível quantificar e identificar os outros agentes bióticos que afetam a produção de pinha/pinhão, acima indicados. Para o efeito foram retiradas amostras de cada zona de produção (Tabelas 1 e 2), e colocadas na estufa a 40°C durante 48h até à libertação dos pinhões. Verifica-se que na campanha de 2010-2011

foram analisadas 253 pinhas (18857 pinhões com casca) e na campanha de 2011-2012, 410 pinhas (32622 pinhões com casca).

Tabela 1 - Locais onde foram efetuadas colheitas aleatórias de pinhas (2010-2011) para a avaliação dos dados de rendimento de pinha/pinhão.

Campanha de 2010-2011						
Data da entrega	Distrito	Concelho	Freguesia	Herdade	Nº pinhas	Total de pinhas por distrito
10-Mar	Évora	Mora	Cabeção	M.N.Cabeção	10	52
14-Mar	Évora	Évora	Torre Coelheiros	H.Silveiras	12	
01-Mar	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	H. Monte Frades	10	
01-Mar	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	H. Aloqueira e Martinelo	10	
01-Mar	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	H. Fundação Bragança	10	
01-Mar	Portalegre	Ponte Sôr	Montargil	H. Pero	10	12
07-Mai	Portalegre	Avis	Avis	H. dos Bordalos	2	
17-Jul	Santarém	Coruche	Couço	Herdade da Arriscada	1	11
13-Jun	Santarém	Salvaterra de Magos	Muge	M. N. Escaroupim	10	
12-Mai	Setúbal	Alcácer	St.Maria do Castelo	H.Pinheiro	13	168
01-Jul	Setúbal	Alcácer	St.Maria do Castelo	H.Pinheiro	4	
22-Mar	Setúbal	Alcácer	St.Maria do Castelo	H.Pinheiro	30	
28-Mar	Setúbal	Sesimbra	Castelo	Apostiça	10	
30-Mar	Setúbal	Grândola	Azinheira dos Barros	Monte Queimado	11	
30-Mar	Setúbal	Alcácer	Torrão	H. São Bento	10	
31-Mar	Setúbal	Sesimbra	Castelo	H. Mesquita	10	
01-Mar	Setúbal	Alcácer	Alcácer	H. Benagocil	10	
01-Mar	Setúbal	Montijo	Pegões	E.N.4	10	
01-Mar	Setúbal	Alcácer	Palma	H. Val Cão	10	
01-Mar	Setúbal	Alcácer	Alcácer	H.Quinta de Soure	10	
10-Mar	Setúbal	Sines	Sines	Santa Comba	10	
10-Mar	Setúbal	S.Cacém	S. Cacém	Ortiga de Cima	10	
10-Mar	Setúbal	Sines	Sines	Rebêde	10	
10-Mar	Setúbal	S.Cacém	Sto. André	Maria da Moita	10	
13-Jun	Viseu	Viseu	Cavernães	Cavernães	10	10

Tabela 2 - Locais onde foram efetuadas colheitas aleatórias de pinhas (2011-2012) para a avaliação dos dados de rendimento de pinha/pinhão.

Campanha de 2011-2012						
Data da entrega	Distrito	Concelho	Freguesia	Herdade	Nº de pinhas	Total de pinhas por distrito
10-Jan	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	Herdade dos Carvalhais	20	60
12-Fev	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	Herdade dos Carvalhais	20	
12-Mar	Évora	Vendas Novas	Vendas Novas	Herdade do Carvalhais	20	
12-Fev	Portalegre	Ponte Sôr	Montargil	-	15	15
12-Fev	Santarém	Coruche	Coruche	Parque Clonal de Coruche (Quinta Grande)	89	169
12-Mar	Santarém	Benavente	Sto. Estevão	Quinta da Asseiceira	20	
12-Mar	Santarém	Benavente	Sto. Estevão	Mata do Duque	20	
12-Mar	Santarém	Coruche	Couço	-	20	
12-Mar	Santarém	Coruche	Biscainho	Herdade do Fidalgo	20	
12-Jan	Setúbal	Alcácer do Sal	Torrão	Herdade de São Bento	8	125
12-Mar	Setúbal	Alcácer do Sal	Alcácer do Sal	PC de A. do Sal	11	
12-Fev	Setúbal	Montijo	Montijo	Herdade da Abegoaria	8	
12-Mai	Setúbal	Grândola	Azinheira de Barros	Herdade da Azinhas	10	
12-Mai	Setúbal	Grândola	Grândola	Herdade Barradas da Serra	6	
12-Mai	Setúbal	Alcácer do Sal	St. Maria do Castelo	Herdade Monte Novo Palma	82	
12-Jan	Viseu	-	-	-	18	41
12-Fev	Viseu	-	-	-	23	

Os pinhões foram contados e pesados, tendo-se de seguida procedido ao descasque com martelo, retirado o miolo e pesado de novo.

As pinhas recolhidas foram analisadas quantificando-se as seguintes variáveis:

i) Peso Verde de cada pinha, ii) Número total de pinhões, iii) Percentagem de pinhões inviáveis (pinhões vazios) e iv) pinhas danificadas e anómalas, procedendo-se à identificação dos agentes bióticos e quantificação da sua abundância e estragos.

A existência de acréscimos ou decréscimos significativos no peso Verde (g), número de pinhões total e Percentagem de pinhões vazios, entre as campanhas de 2010-2011 e 2011-2012 nos 5 distritos, foi testada usando um ANOVA a dois fatores e teste LSD para identificação de grupos homogêneos. Testou-se também a existência de correlação significativa entre as variáveis Peso verde e Número total de pinhões. Por último testou-se a existência de diferenças significativas na incidência dos diferentes agentes bióticos entre locais e campanhas (ANOVA a dois fatores e teste LSD para identificação de grupos homogêneos). Sempre que necessário recorreu-se ao coeficiente de correlação de Spearman. As análises estatísticas foram efetuadas com recurso ao software “Statistica 6.0”.

3.2. Estudo da biologia de *L. occidentalis* em Portugal

3.2.1. Recolha de *L. occidentalis* em condições de campo para acompanhamento em laboratório

Para os estudos de ciclo de vida do *L. occidentalis* foi necessário proceder à sua captura/recolha em condições de campo. Em 2012 foram testadas várias modalidades para a captura do *L. occidentalis*, entre elas a da recolha dos insetos debaixo da árvore com o auxílio de tecido a proteger o solo, com batimentos na árvore, não havendo sucesso nas mesmas. As capturas foram efetuadas manualmente, com o auxílio de um camaroeiro, em árvores de copa mais baixa de forma a conseguir ter contacto visual e facilitar a sua captura, assim como no interior de habitações e em armadilhas multi-funil nos meses correspondentes ao final do ensaio.

Inicialmente as capturas/recolhas foram realizadas em Santa Suzana (concelho de Sintra), no dia 29 de Abril de 2013. Posteriormente efetuaram-se capturas no Parque Clonal (PC) de Alcácer do Sal (21 e 29 de Agosto de 2013) e perto do final ensaio (Outubro e Novembro de 2013) capturaram-se indivíduos na Comporta (concelho de Alcácer do Sal), Vale Feitoso (concelho de Idanha-a-Nova), na Base aérea de Monte Real (concelho de Leiria) e em Abrantes.

Através das observações realizadas em 2012 foi possível identificar adultos de *L. occidentalis* a alimentarem-se nas pinhas de 3ª primavera (Fig. 3).



Figura 3 - *Leptoglossus occidentalis* adulto a alimentar-se numa pinha de 3ª primavera, em Santa Suzana.

Na tentativa de tornar mais eficaz a captura de indivíduos adultos vivos de *L. occidentalis*, bem como avaliar a eficiência de armadilhas para a captura da espécie, realizou-se uma experiência através do uso de armadilhas de processonária (tipo funil) com atrativos de *P. pinea*, sendo produzidos cinco tipo de extratos:

- Agulhas;
- Flores do ano (masculinas e femininas);
- Pinhas com 1 ano de idade;
- Pinhas com 2 anos de idade;
- Mistura dos anteriores (agulhas + flores do ano + pinhas).

Pedaços de esponja (5 x 5cm) foram embebidos com os extratos e colocados nas armadilhas. O material e a metodologia utilizados para os extratos são apresentados no anexo 1.

As armadilhas foram colocadas no Parque Clonal de Coruche (Fig. 4) e realizaram-se monitorizações periódicas (≈5 dias). Foram executadas 4 repetições de cada um dos 5 extratos, para um total de 20 armadilhas.



Figura 4 - Localização e identificação das armadilhas para captura de *L.occidentalis* no Parque Clonal de Coruche com os diferentes extratos de pinheiro-mansó (2013). Estão identificados a laranja as armadilhas com extratos de flores do ano, a encarnado as armadilhas com extratos de agulhas, a verde com extratos de pinhas com 1 e 2 anos e a azul as que possuem uma mistura dos extratos anteriores.

3.2.2. Avaliação do ciclo biológico em condições naturais

Com o objetivo de reproduzir o melhor possível as condições de habitat natural de *L. occidentalis*, procedeu-se à instalação de mangas de etamine em pinheiros-mansos no PC de Coruche e no PC de Alcácer do Sal, de maneira a que os indivíduos completassem o seu ciclo de vida e possam ser facilmente monitorizados. Para tal, procedeu-se à marcação de ramos de pinheiro-manso com pinhas de 2ª e 3ª primavera (4 árvores) e o mesmo foi efetuado no PC de Alcácer do Sal, com a marcação de 5 árvores. Estas árvores foram selecionadas em função de observações de campo anteriores, *i.é.*, árvores onde já tinham sido visualizados *L. occidentalis*. Utilizou-se mangas com dimensões aproximadas de 1,30m x 0,60m, inseridas nos ramos das árvores (Fig. 5). Nestas mangas foram colocadas ninfas e adultos provenientes de um ensaio preliminar (Junho de 2012), conforme descrito nas Tabelas 3 e 4. A instalação foi efetuada no dia 8 de Agosto de 2012.

Tabela 3 - Identificação das mangas colocadas no PC de Coruche, descrição do número de *L. occidentalis* e caracterização dos ramos.

Nº da Manga	<i>L. occidentalis</i>	Caracterização do ramo
1	2 machos e 2 fêmeas	2 pinhas com 2 anos e 2 pinhas com um ano
2	1 macho e 1 fêmea	1 pinha com 2 anos e 1 pinha com um ano
3	1 macho e 1 fêmea	1 pinha com 2 anos
4	10 juvenis do 2º instar	1 pinha com 2 anos

Tabela 4 - Identificação das mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal, descrição do número de *L. occidentalis* e caracterização dos ramos.

Nº da Manga	<i>L. occidentalis</i>	Caracterização do ramo
1	8 adultos	1 pinha com 2 anos
2	10 ninfas do 2º instar	1 pinha com 2 anos e 1 pinha com um ano
3	6 ninfas do 4º instar	3 pinhas com 2 anos e 2 pinhas com um ano
4	10 ninfas do 3º instar	4 pinhas com 2 anos
5	10 ninfas do 1º instar	3 pinhas com 2 anos e uma flor do ano



Figura 5 - Manga com indivíduos de *L. occidentalis* instalada num pinheiro do PC de Alcácer do Sal com o objetivo de estudar o ciclo de vida do inseto em condições de campo.

3.2.3. Avaliação do ciclo de vida de *L. occidentalis* em laboratório

Em 2012 e 2013 procedeu-se à avaliação do ciclo biológico do inseto em condições laboratoriais. Diferentes ensaios foram iniciados nos dois anos consecutivos, em particular três correspondentes a posturas, um de ninfas e dois de indivíduos adultos.

- Acompanhamento do desenvolvimento das posturas

Com o objetivo de realizar o estudo do ciclo de vida de *L. occidentalis*, no dia 15 de Junho de 2012 realizou-se um primeiro ensaio para acompanhar o seu desenvolvimento embrionário e ninfal. Usaram-se posturas de *L. occidentalis* provenientes de um ensaio preliminar. Estas foram colocadas em placas de Petri (Fig. 6) com \varnothing 8cm. Aquando da eclosão, as ninfas foram alimentadas com agulhas de pinheiro-manso, água, maçã fresca e pinhas de 1 ano e de 2 anos. As ninfas foram acompanhadas diariamente e mantidas à temperatura ambiente (20-25° C) e teor de humidade ambiente (\approx 70%).



Figura 6 - Ninfas de *L. occidentalis* do 1º instar (≈3mm de comprimento) oriundas de posturas colocadas pelos insetos do ensaio preliminar (Junho de 2012).

No dia 29 Abril de 2013 foi iniciado um 2º ensaio. Para o efeito utilizaram-se posturas colocadas por insetos oriundos das mangas do Parque Clonal de Alcácer do Sal e por insetos capturados em Santa Suzana. As posturas foram colocadas numa placa de Petri (ø 8cm) até à sua eclosão. Depois de eclodirem, as ninfas do 1º instar foram transferidas para uma placa de Petri de vidro (ø 15 cm) e foram alimentadas com:

- Agulhas de pinheiro-manso e pinheiro-de-alepo *P. halepensis*;
- Flores do ano de ambas as espécies;
- Algodão embebido com água e açúcar;
- Macerado de agulhas de pinheiro manso;
- Macerado de flores do ano de pinheiro manso e pinheiro-de-alepo.

Para a realização dos macerados cortaram-se as agulhas e flores do ano em pequenos pedaços, juntou-se água e utilizou-se um almofariz para a obtenção do macerado, sendo posteriormente misturado com açúcar. Embeberam-se porções de algodão hidrófilo e pedaços de esponja com a mistura obtida e colocaram-se no interior das placas de Petri com as novas ninfas (Fig. 7). Neste estudo foram utilizadas as condições descritas anteriormente para o 1º ensaio. As ninfas foram acompanhadas diariamente e registada a sua sobrevivência e desenvolvimento.

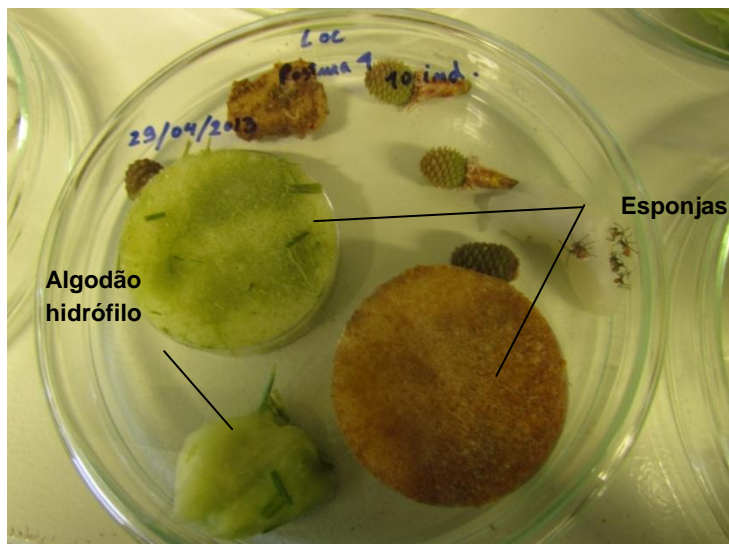


Figura 7 - Placa de Petri correspondente ao 2º ensaio de posturas de *L. occidentalis*, provenientes de insetos adultos das mangas retiradas no PC de Alcácer do Sal e capturados em Santa Suzana (Abril de 2013). Na figura são visíveis os vários tipos de alimentos, bem como as ninfas (limite direito da placa de Petri).

No dia 12 de Setembro de 2013 foi possível obter uma última postura de *L. occidentalis* (3º ensaio), proveniente de insetos adultos capturados no PC de Alcácer do Sal. A postura seguiu o procedimento descrito para os dois ensaios anteriores até à sua eclosão. Após a eclosão, a temperatura foi controlada a 21,5° C até ao fim do mês de Outubro (posteriormente a 16° C) e humidade ambiente (≈70%), através de um equipamento de ar condicionado. O alimento fornecido consistiu em ramos de *P. pinaster* e *P. pinea*, pinhas de 2ª primavera de *P. pinaster*, pinhas de 3ª primavera de *P. pinea*, mel e algodão embebido com água e açúcar. As ninfas foram colocadas numa caixa de acrílico com dimensões 30cm x 30cm (Fig. 8) e acompanhadas diariamente.



Figura 8 - Caixa em que foram colocadas as ninfas eclodidas da postura do 3º ensaio (Setembro de 2013), proveniente de adultos capturados no PC de Alcácer do Sal.

- Acompanhamento do desenvolvimento das ninfas capturadas em campo

Com o objetivo de acompanhar a evolução de indivíduos de *L. occidentalis* a partir da fase de ninfa, procedeu-se à captura de ninfas no PC de Alcácer do Sal (21 de Agosto de 2013). As ninfas foram acompanhadas regularmente em laboratório com alimento e condições descritas anteriormente para o 3º ensaio de posturas (após a eclosão). Estas foram colocadas em duas caixas separadas: a primeira com ninfas de 1º, 2º e 3º instar (rede plastificada 70cm x 40cm) e a segunda com ninfas de 4º e 5º instar (rede metálica 25 x 25cm) (Fig. 9). No dia 29 de Agosto de 2013 foram efetuadas mais capturas de ninfas no PC de Alcácer do Sal, sendo colocadas em conjunto com as anteriores.



Figura 9 - Caixas onde se colocaram as ninfas de *L. occidentalis* provenientes do PC de Alcácer do Sal, para o estudo do seu ciclo de vida em condições de laboratório (21 de Agosto de 2013). Do lado esquerdo a caixa correspondente às ninfas de 4º e 5º instar e do lado direito a caixa correspondente às ninfas de 1º, 2º e 3º instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturadas mais ninfas no mesmo local e adicionadas às anteriores.

- Acompanhamento do desenvolvimento dos adultos capturados em campo

Após realizado o estudo descrito em §3.2.2., procedeu-se à retirada das mangas em campo (2 de Abril de 2013) e os insetos daí resultantes foram mantidos em laboratório e acompanhados frequentemente, com o objetivo de acompanhar a sua evolução e realização de posturas. Durante o mesmo período também foi possível efetuar capturas em Santa Suzana, no dia 29 de Abril de 2013. As condições utilizadas foram as anteriormente descritas para o 3º ensaio de posturas (após a eclosão), exceto a temperatura que nesta situação foi a ambiente (20-25° C). O alimento consistiu em ramos e pinhas de 3ª primavera de pinheiro-mansinho e algodão embebido

com água e açúcar. Os insetos oriundos de cada uma das mangas foram mantidos separadamente em caixas de rede metálica (25cm x 25cm) e de acrílico (30cm x 30cm) (Fig. 10).



Figura 10 - Caixa onde foram colocados os indivíduos da manga nº1 de Alcácer do Sal, no dia 2 de Abril de 2013.

No dia 21 de Agosto de 2013 foi possível efetuar capturas de *L. occidentalis* adultos no PC de Alcácer do Sal. Esses adultos seguiram as condições descritas para o 3º ensaio de posturas (após a eclosão) e alimentados do mesmo modo. Os insetos foram colocados numa caixa de acrílico (30cm x 30cm) (Fig. 11) e seguidos regularmente. No dia 29 de Agosto de 2013 foi capturado um indivíduo adulto no mesmo local e nos dias 18 de Outubro e 4 de Novembro de 2013 foram capturados mais insetos na Comporta.



Figura 11 - Caixa em que foram colocados os adultos capturados no PC de Alcácer do Sal e Comporta com o objetivo de estudar o seu ciclo de vida em condições de laboratório, nos dias 21 e 29 de Agosto, 18 de Outubro e 4 de Novembro de 2013.

Foi possível efetuar capturas de *L. occidentalis* adultos na Base Aérea de Monte Real (4 de Novembro de 2013). Os insetos foram mantidos em laboratório numa caixa de acrílico (30cm x 30cm), acompanhados frequentemente e sob as condições anteriormente descritas para as posturas do 3º ensaio (após eclosão) (Fig. 12).



Figura 12 - Caixa de acrílico onde foram colocados os insetos provenientes da Base aérea de Monte Real em 4 de Novembro de 2013.

Numa fase final foi possível também capturar exemplares de *L. occidentalis* adultos em Vale Feitoso e Abrantes nos dias 11 e 17 de Novembro de 2013. Estes foram colocados sob condições de laboratório numa caixa de madeira e rede metálica com dimensões (1,20m x 0,4m) (Fig. 13), sendo acompanhados regularmente.



Figura 13 - Caixa onde foram colocados em conjunto os *L. occidentalis* adultos provenientes de Vale Feitoso e Abrantes (11 e 17 de Novembro de 2013).

3.2.4. Determinação do comprimento do estilete e do corpo do *L. occidentalis*

Sendo fundamental identificar o tipo de estragos que o *L. occidentalis* pode causar nas pinhas (1ª, 2ª e 3ª primavera), realizaram-se medições para determinar o comprimento do corpo e do estilete do inseto nos 5 estádios ninfais e estado adulto. Para a determinação do comprimento do corpo e estilete das ninfas e adultos foi utilizada uma craveira digital.

3.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-mansão

3.3.1. Estudo da Fenologia reprodutiva

Com o objetivo de acompanhar a evolução das estruturas reprodutivas do pinheiro-mansão e a sua suscetibilidade aos estragos causados pelo *L. occidentalis* e outras pragas e doenças, em 2012 e 2013 procedeu-se ao estudo do comportamento fenológico das estruturas reprodutivas. Para este estudo marcaram-se 2 parcelas no povoamento de pinheiro-mansão do PC de Coruche que se caracteriza por ser regular e equiênio e plantado num compasso de 5m x 5m, onde a maioria das árvores são enxertadas (Fig. 14).

Esta é uma zona onde predominam aluviões, areias e cascalheiras associadas a regossolos e cambissolos êutricos (Atlas do ambiente, 1978; Atlas do Ambiente, 1983). Foram utilizados os dados climáticos da Estação Meteorológica de Salvaterra Magos e do posto udométrico de Coruche (Mendes *et al.*, 1991) para caracterizar a zona da parcela, sendo os ventos predominantes de Noroeste, a temperatura média anual de 15,4° C e a pluviosidade média anual de 757,3mm. A humidade relativa varia entre os 65% e os 70% (Atlas do Ambiente, 1985) e a zona situa-se ao nível médio do mar em termos de altitude (Atlas do Ambiente, 1982).



Figura 14 - Imagem do “Google Maps” do PC de Coruche (verde) e localização das parcelas 9 e 11 (encarnado) onde foi realizado o estudo da fenologia reprodutiva do pinheiro-manso (2012 e 2013).

Para o estudo da fenologia foram selecionadas duas parcelas de forma aleatória dentro do PC de Coruche e em cada uma marcaram-se 20 árvores vivas, sendo a árvore nº 1 a do canto S-SE. A numeração das árvores inclui as árvores mortas, pelo que a parcela nº 9 é numerada de 1 a 25 (5 árvores mortas) e a parcela nº 11 de 1-21 (uma árvore morta). Das árvores vivas usadas no estudo identificaram-se as enxertadas e não-enxertadas. (Fig. 15 e 16).

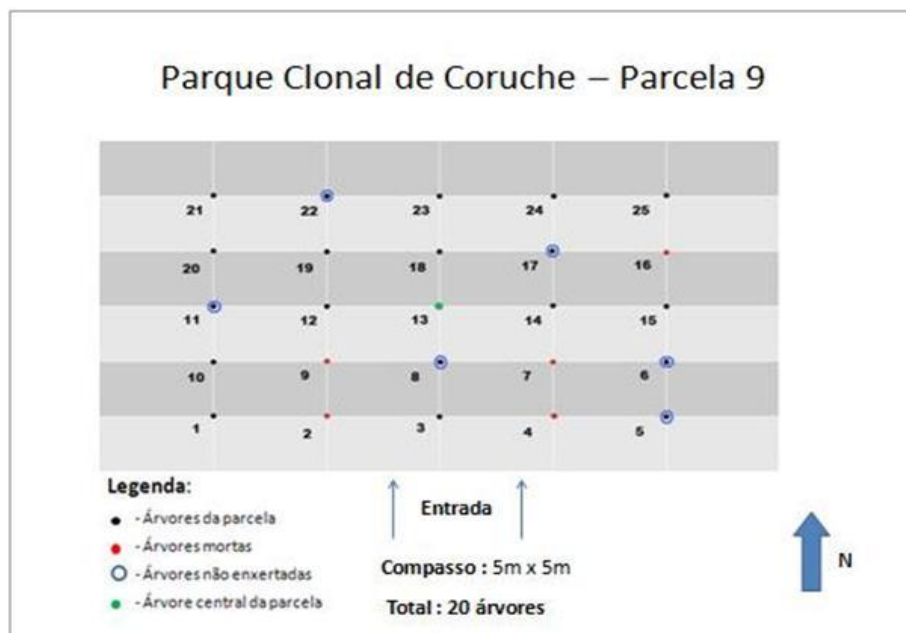


Figura 15 - Esquema da parcela 9 do PC de Coruche com 25 árvores, das quais foram selecionadas 20 árvores vivas. Estão identificadas com ● as árvores mortas, as árvores não enxertadas ○ e a árvore central da parcela ● (2012 e 2013).

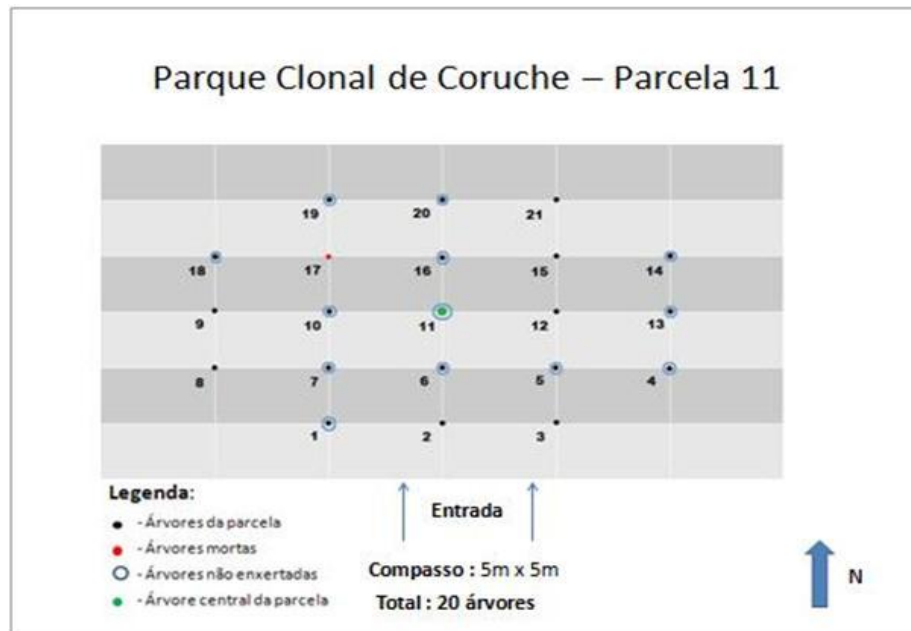


Figura 16 - Esquema da parcela 11 do PC de Coruche com 21 árvores, das quais foram selecionadas 20 árvores vivas. Estão identificadas com ● as árvores mortas, as árvores não enxertadas ○ e a árvore central da parcela ● (2012 e 2013).

Nas duas parcelas, periodicamente foram realizadas observações e registos individuais das árvores com o objetivo de acompanhar o desenvolvimento fenológico das árvores. Nestas observações foram realizados os registos da fenologia da floração masculina e feminina, do estágio de desenvolvimento das estruturas reprodutivas nos vários estádios de desenvolvimento, assim como contagens de flores do ano e de pinhas com 1 ano e 2 anos. Foram também elaborados registos fotográficos destes estádios com uma câmara digital Cannon modelo SX 30 IS equipada com um zoom ótico 35x. As observações fenológicas realizaram-se nas seguintes datas:

- 1 de Março, 13 de Junho, 27 de Junho e 7 de Agosto de 2012;
- 2 de Abril, 2 de Maio, 28 de Maio de 2013.

3.3.2. Fenologia, biometria e ontogenia das estruturas reprodutivas

Complementarmente ao estudo realizado em §3.3.1., efetuou-se um estudo mais detalhado da fenologia e biometria das estruturas reprodutivas da espécie na localidade de Santa Suzana, no concelho de Sintra (Fig. 17, 18 e 19). Esta é uma zona onde predominam os arenitos e conglomerados, associados a cambissolos cálcicos e rochas sedimentares post-paleozóicas (Atlas do ambiente, 1978; Atlas do Ambiente, 1983). Utilizaram-se os dados da Estação Meteorológica de Sintra/Granja (Mendes *et al*, 1991) para caracterizar a zona da parcela, sendo os ventos predominantes de Noroeste, a temperatura média anual de 14,6° C e a pluviosidade média anual de

860,9mm. A Humidade Relativa varia entre os 70% e os 75% (Atlas do Ambiente, 1985) e a zona situa-se entre os 50 e os 100m de altitude (Atlas do Ambiente, 1982).

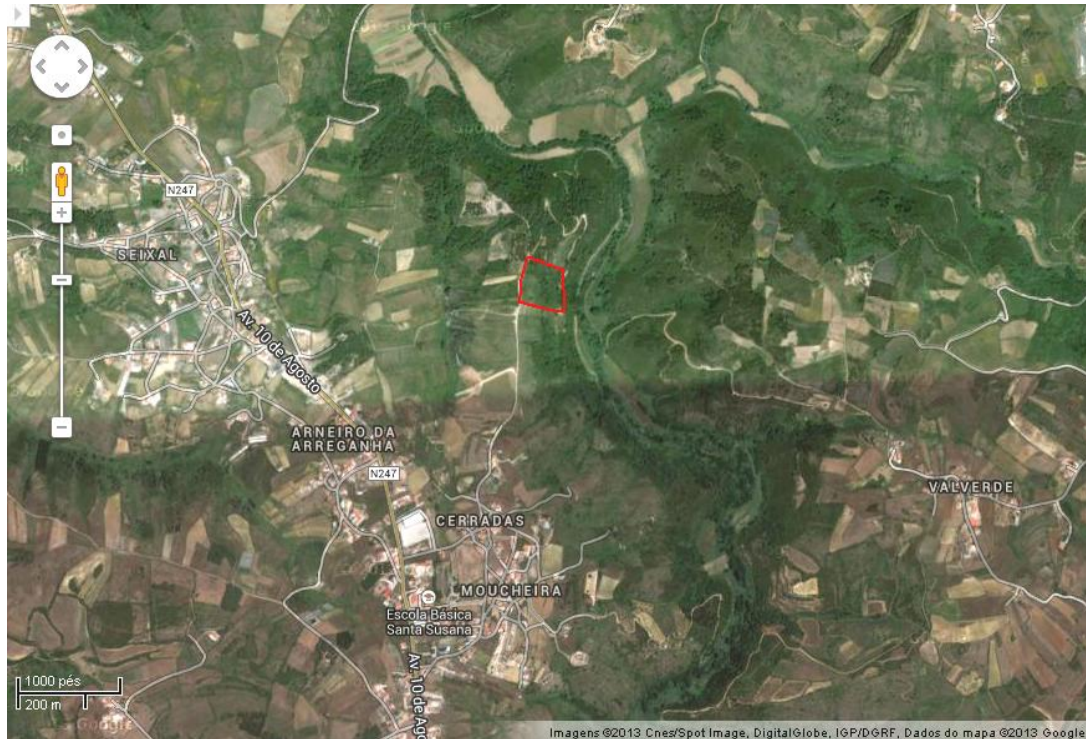


Figura 17 - Imagem do “Google Maps” da área em que foi realizado o estudo da fenologia e biometria das estruturas reprodutivas do pinheiro-manso (encarnado) (2013).

Na zona predominam algumas espécies que, tal como o pinheiro-manso, estão isentas de intervenções realizadas pelo Homem e propagam-se através da regeneração natural, como o caso do pinheiro-bravo, o carrasco *Quercus coccifera* L., o sobreiro e o zambujeiro *Olea europaea* L. var. *sylvestris*. O eucalipto *Eucalyptus globulus* Labill. também se encontra na zona em pequenas plantações.



Figura 18 e Figura 19 - Vista geral do local onde foi realizado o estudo da fenologia, biometria e ontogenia das estruturas reprodutivas do pinheiro-manso, a sul (esquerda) e norte (direita).

Para o estudo da fenologia, biometria e ontogenia das estruturas reprodutivas do *P. pinea* foi essencial calendarizar as datas de registo fenológico (fotos macroscópicas), das colheitas para registos das dimensões (biometria) assim como das colheitas para procedimentos histológicos (ontogenia).

Assim, para a realização destes estudos, foram realizadas recolhas de material com intervalo de ≈ 15 dias no período de dia 19 de Novembro de 2012 até 24 de Abril de 2013 (fase 1) e de ≈ 10 dias no período de 24 de Abril de 2013 a 21 de Junho de 2013 (fase 2). Na primeira fase o material recolhido consistiu em ápices dos ramos nas posições que poderiam vir a originar inflorescências femininas e/ou masculinas e procedeu-se ao registo das dimensões das pinhas com 1 e 2 anos, para avaliar o seu crescimento na árvore. Na segunda fase foram colhidas inflorescências femininas e masculinas, pinhas com 1 ano de idade e pinhas com 2 anos. Foram igualmente recolhidas pinhas com 1 ano no dia 3 de Dezembro de 2012 com o objetivo de efetuar registos fotográficos.

Os registos fotográficos da zona e do aspeto macroscópico das estruturas colhidas foram realizados com uma camara digital Cannon modelo SX 30 /S equipada com um zoom ótico 35x. As dimensões do material foram medidas com uma régua graduada.

3.3.2.1. Técnicas histológicas para a visualização das estruturas reprodutivas do pinheiro-mansó

Procedeu-se à colheita de material vegetal e respetiva identificação, sendo fixado (mínimo de 48h e máximo de 7 dias) em FAA (1:1:18 - formaldeído: ácido acético: etanol (EtOH) a 70%) a 4°C (Johansen, 1940; Ruzin, 1999). A desidratação foi realizada através de uma série progressiva de etanol: 70% - 80% - 90% - 100%, com intervalos de pelo menos duas horas. O solvente intermédio entre o etanol e a parafina foi o xilol (Xil) numa outra série progressiva [EtOH/Xil – (3:1), (1:1); (1:3)]. Para a inclusão do material, foi utilizada a parafina (p.f. 57-60°C). Os cortes histológicos foram realizados num micróto mo rotativo Leica RM2255 com a espessura de 12 μ m e corados com Hematoxilina de Heidenheim adaptada por Valdivieso, (1999).

Conforme o estágio de desenvolvimento do material e respetivas dimensões, a observação e aquisição de imagem dos cortes histológicos foram realizadas através de dois equipamentos:

- Lupa Leica MZ 125 com o equipamento fotográfico Olympus DP 11. (cortes de maiores dimensões);

- Microscópio ótico (Olympus BX41), aquisição de imagem realizada com o equipamento ProgRes® CapturePro 2.8 - JENOPTIK Optical Systems e capturado com o programa ProgRes® Systeme - JENOPTIK Optical Systems (cortes de menores dimensões).

3.3.2.2. Distância do óvulo à superfície da flor/pinha

Na tentativa de perceber se o *L. occidentalis* pode causar diretamente estragos nos óvulos em formação, foi necessário proceder à medição da distância entre o exterior da estrutura reprodutiva (onde o inseto introduz o estilete para sugar o seu conteúdo) e a zona mais próxima do óvulo. A medição foi efetuada em cortes histológicos com o equipamento descrito em §3.3.2.1. e com o auxílio de papel milimétrico no caso da lupa.

4. Resultados

4.1. Produção de pinhão em Portugal

4.1.1. Quantificação da produção e rendimento da pinha/pinhão

Não existindo dados estatísticos disponíveis da produção anual de pinhas, estes foram recolhidos junto dos principais industriais do sector (Empresas “Preparadora de Pinhões Lda”, “Pinhão Pais & Caixas”, “Francisco Pereira Cecílio & Filhos Lda” e “Pinhão Sado-Industria de Pinhão e Produtos Agroalimentares, Lda”) no período de 2000 a 2012, pelo que representam a variação de produção anual nacional. (Fig. 20).

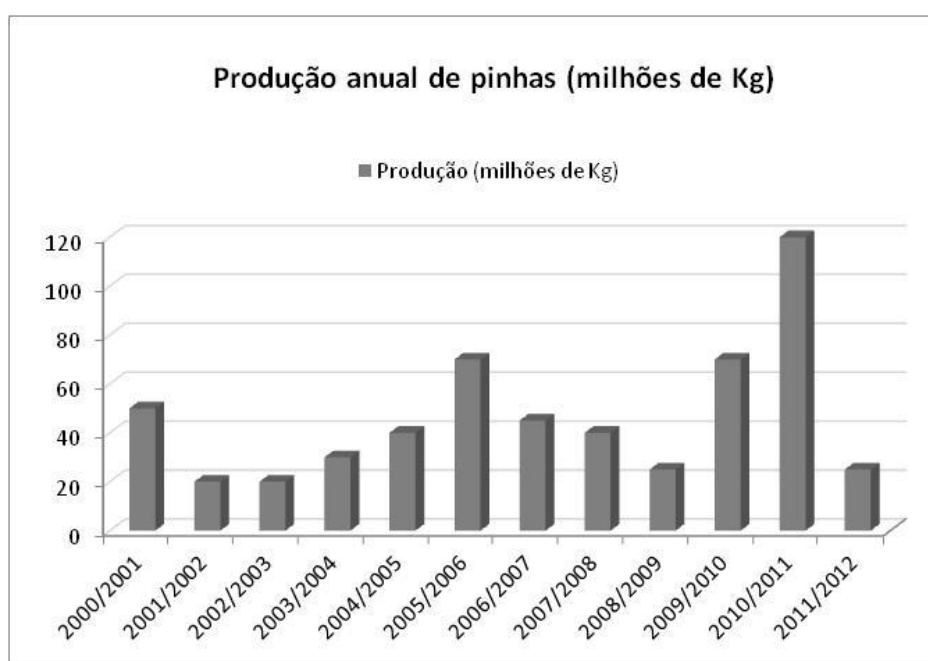


Figura 20 - Evolução da produção anual de pinhas em Portugal entre as campanhas 2000-2001 e 2011-2012. Fonte: Empresas “Preparadora de Pinhões Lda”, “Pinhão Pais & Caixas”, “Francisco Pereira Cecílio & Filhos Lda” e “Pinhão Sado-Industria de Pinhão e Produtos Agroalimentares, Lda”.

É possível constatar que os dados de produção de pinha variam muito de ano para ano, caracterizando-se por ciclos de produção de 4-5 anos, geralmente com dois picos de produção intervalados com 2 anos de contra-safra.

A maior produção foi alcançada na campanha de 2010-2011, tendo-se obtido cerca de 120 milhões de Kg de pinhas com um rendimento de 4 milhões de Kg de pinhão (rendimento de 3,3%), enquanto que na campanha anterior (2009/2010) apenas se tinham obtido 60 milhões de Kg de pinhas com um rendimento de 2,1 milhões de Kg de pinhões (rendimento de 3,5%). As menores produções foram

verificadas nas campanhas de 2001-2002, 2002-2003 (cerca de 20 milhões de Kg) e 2008-2009, 2011-2012 (cerca de 25 milhões de Kg). Os dados referentes a perdas de produção associadas a ataques de pragas e doenças não foram contabilizados neste período.

Os valores de rendimento em pinhão, obtidos em duas das maiores empresas transformadoras de pinhão (“Preparadora de Pinhões Lda” e “António Pais Lda”) mostram que nos últimos 18 anos o rendimento esteve compreendido entre 3,5 e 4%, com ligeiras alterações (Fig. 21). Contudo, nas campanhas de 2010/2011 e 2011/2012 registaram-se duas quebras consecutivas e na última o valor desceu abaixo de 2,5%, alertando para uma situação anormal que nunca tinha sido alcançada.

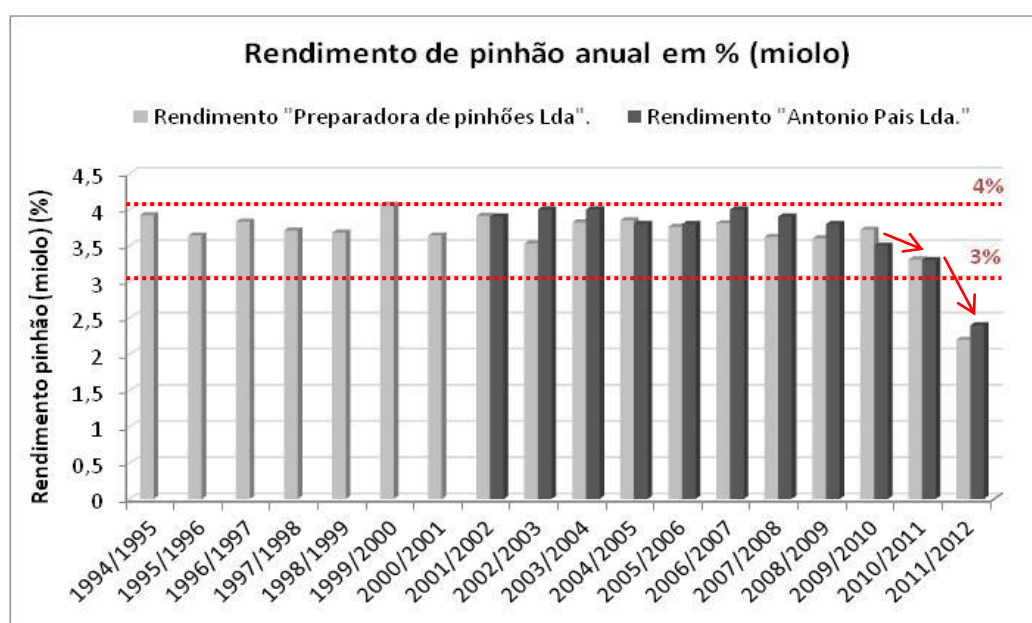


Figura 21 - Rendimento anual do miolo (kg de pinhão/kg de pinha) nos últimos 18 anos. Fonte: Empresa “Preparadora de Pinhões, Lda” (representa 60% do mercado nacional) e “António Pais Lda”.

Verifica-se ainda que ao longo das 12 últimas campanhas, a relação entre a produção e o rendimento anual se mantém com exceção do que se verificou nas duas últimas campanhas (Fig. 22). A campanha de 2010/2011 com elevada produção e baixo rendimento e a campanha de 2011/2012 com reduzida produção e rendimento.

Uma análise de correlação de Spearman para as 10 campanhas (2002/2003 e 2011/2012) permite-nos concluir que o rendimento de um ano está inversamente correlacionado com a produção do ano anterior (Tabela 5) (-0.84; $p < 0,05$). Este padrão sugere que após anos de produção elevada, o rendimento do ano seguinte tende a baixar e que após anos de baixa produção estima-se um rendimento superior no ano seguinte.

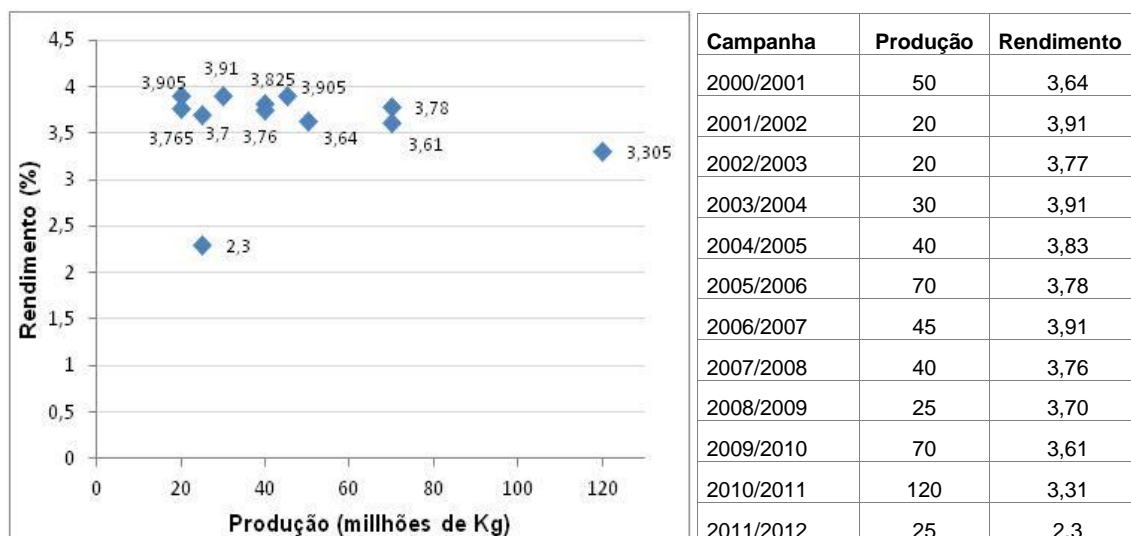


Figura 22 - Relação entre a Produção e o Rendimento para o período de 12 campanhas (2001 a 2012). Fonte: Empresa “Preparadora de Pinhões, Lda.” (representa 60% do mercado nacional) e “António Pais Lda”.

Tabela 5 - Correlação entre a Produção e o Rendimento do ano anterior e de dois anos atrás para o período de 10 campanhas (2000 a 2012).

Correlação de Spearman; $p < 0,05$; $N=10$				
	Rendimento	Produção	Produção do ano anterior	Produção de dois anos anteriores
Rendimento	1,00			
Produção	0,10	1,00		
Produção do ano anterior	-0,84	0,10	1,00	
Produção de dois atrás	-0,59	-0,42	0,47	1,00

4.1.2. Estudo do impacto e identificação dos agentes bióticos na produção de pinha/pinhão

Os resultados referentes à amostragem nos cinco distritos (Évora, Portalegre, Santarém, Setúbal e Viseu) de pinhas e pinhões com casca (campanhas 2010/2011 e 2011/2012) encontram-se na Tabela 6. O número de pinhas recolhidas variou entre os diferentes distritos devido à indisponibilidade de meios para efetuar a sua recolha, o que se traduziu numa menor amostragem em alguns distritos e/ou campanhas.

Tabela 6 - Amostragem de pinhas e pinhões com casca nos cinco distritos analisados (\bar{x} = média, σ = erro padrão e Δ = máx; min).

Campanha	Distrito	Nº pinhas (N)	Peso verde (g) ($\bar{x} \pm \sigma$) (Δ)	Nº total de pinhões ($\bar{x} \pm \sigma$) (Δ)	Nº de pinhões viáveis ($\bar{x} \pm \sigma$) (Δ)	Percentagem de pinhões vazios ($\bar{x} \pm \sigma$)
2010-2011	Setúbal	168	191,85 \pm 2,9 (292,2 ; 59,3)	69 \pm 1,95 (122 ; 12)	62 \pm 2,06 (111 ; 3)	13,3 \pm 1,52
2011-2012	Setúbal	125	220,1 \pm 5,04 (371,6 ; 80,2)	75 \pm 2,56 (147 ; 6)	52 \pm 2,70 (114 ; 0)	33,7 \pm 2,0
2010-2011	Santarém	11	201,05 \pm 10,69 (260,0 ; 155,3)	90 \pm 7,73 (113 ; 68)	81 \pm 8,14 (109 ; 57)	10,7 \pm 6,03
2011-2012	Santarém	169	309,12 \pm 5,33 (507,3 ; 130,9)	88 \pm 1,97 (168 ; 10)	61 \pm 2,08 (140 ; 0)	33,7 \pm 1,54
2010-2011	Évora	52	210,83 \pm 6,8 (351,2 ; 109,4)	83 \pm 3,55 (153 ; 40)	76 \pm 3,74 (151 ; 36))	8,8 \pm 2,77
2011-2012	Évora	60	218,67 \pm 9,03 (470,5 ; 1 07,8)	70 \pm 3,31 (127 ; 18)	32 \pm 3,49 (107 ; 0)	58,9 \pm 2,58
2010-2011	Portalegre	12	220,49 \pm 16,6 (314 ; 149,4)	96 \pm 7,40 (132 ; 60)	87 \pm 7,79 (120 ; 55)	8,6 \pm 5,77
2011-2012	Portalegre	15	111,41 \pm 12,93 (197,7 ; 36,4)	42 \pm 6,62 (89 ; 8)	5 \pm 6,98 (22 ; 0)	90,3 \pm 5,16
2010-2011	Viseu	10	179,17 \pm 12,6 (262,6 ; 120,3)	64 \pm 8,10 (95 ; 40)	58 \pm 8,54 (88 ; 32)	11,4 \pm 6,32
2011-2012	Viseu	41	305,93 \pm 12,10 (469,1 ; 172,9)	94 \pm 4 (153 ; 72)	74 \pm 4,22 (142 ; 17)	20,7 \pm 3,12

Nas Figuras 23 e 24 é possível verificar a evolução do Peso Verde e do Número de pinhões total das pinhas para os 5 distritos amostrados nas duas campanhas. Verificaram-se diferenças significativas na interacção local*ano para as variáveis “peso verde” ($F(\text{local*ano}) = 20,156$; $p < 0,001$; $gl = 4;632$) (Fig. 25 e Tabela 7) e “número total de pinhões” ($F(\text{local*ano}) = 12,550$; $p < 0,001$; $gl = 4;632$) (Fig. 26 e Tabela 8). Para o “peso verde” (Fig. 25 e Tabela 7) verificou-se variações significativas entre campanhas para todos os distritos, excepto Évora, havendo um decréscimo significativo em Portalegre e acréscimos significativos em Santarém, Viseu e Setúbal. Em 2011 não houve diferenças significativas entre distritos, ao passo que em 2012, Portalegre, Viseu e Santarém destacaram-se dos restantes.

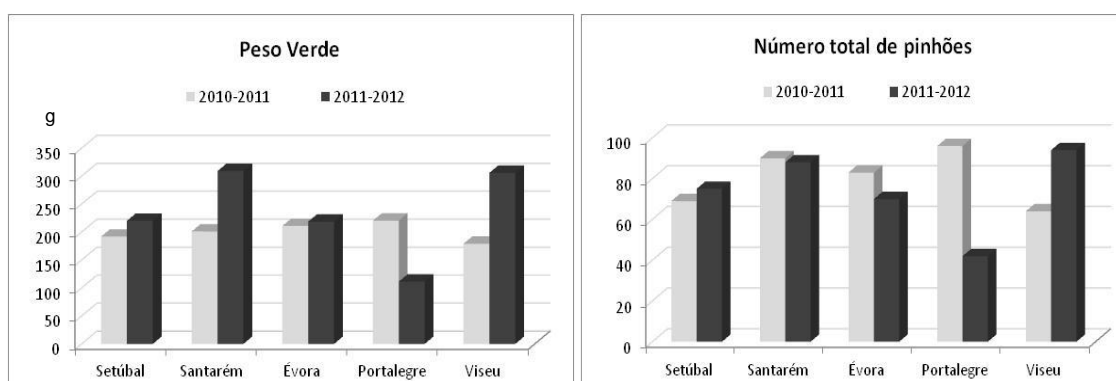


Figura 23 e Figura 24 - Peso verde (g) (esquerda) e número total de pinhões (direita) por distrito e por campanha (2010-2011 e 2011-2012).

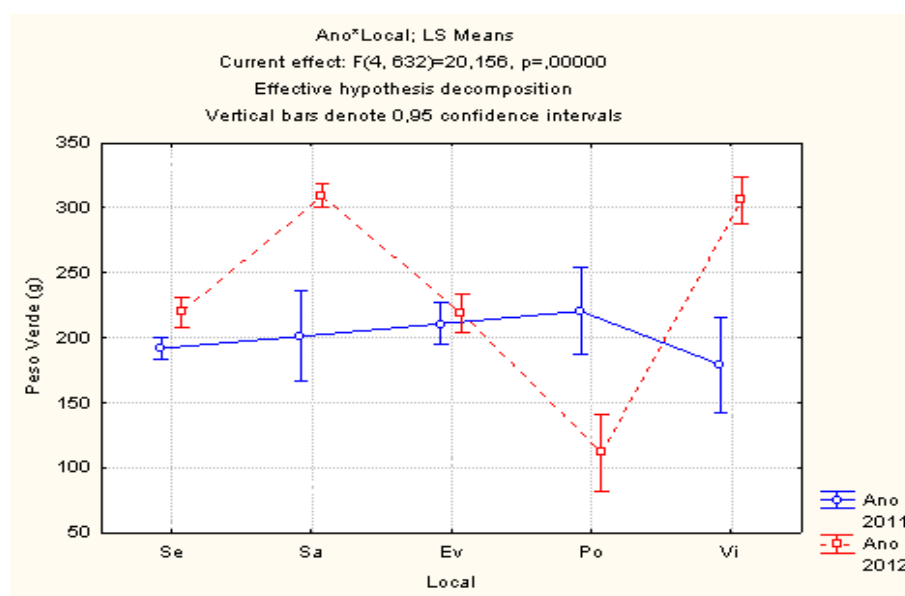


Figura 25 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “peso verde”.

Tabela 7 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogêneos) efetuado para a variável “peso verde” (ano*local).

Teste LSD de Grupos Homogêneos para a variável “Peso Verde”, F (local*ano) = 20,156; p < 0,001 ; gl = 632,00							
Ano	Local	Peso verde	1	2	3	4	5
2012	Po	111,4067					****
2011	Vi	179,1700	****		****		
2011	Se	191,8478			****		
2011	Sa	201,0455	****	****	****		
2011	Ev	210,8327	****	****			
2012	Ev	218,6667	****	****			
2012	Se	220,0980		****			
2011	Po	220,4833	****	****	****		
2012	Vi	305,9293				****	
2012	Sa	309,1160				****	

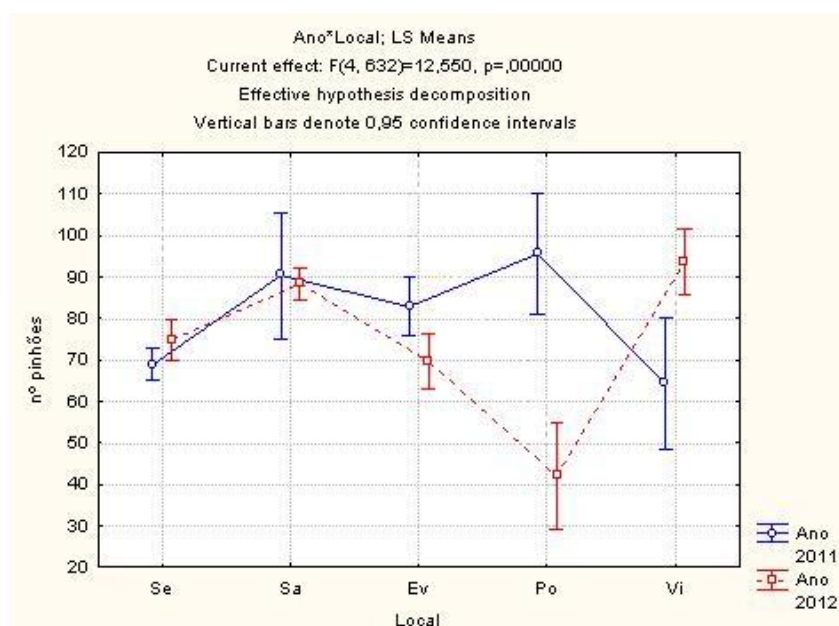


Figura 26 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “número total de pinhões”.

Tabela 8 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogêneos) efetuado para a variável “número total de pinhões” (ano*local).

Teste LSD de Grupos Homogêneos para a variável “Número total de pinhões”; F(local*ano) = 12,550; p < 0,01 ; gl = 632,00							
Ano	Local	Número total de pinhões	1	2	3	4	5
2012	Po	42,06667					****
2011	Vi	64,30000	****				
2011	Se	68,84884	****				
2012	Ev	69,68333	****				
2012	Se	74,85000	****			****	
2011	Ev	82,82692		****		****	
2012	Sa	88,30178		****	****		
2011	Sa	90,36364		****	****	****	
2012	Vi	93,65854			****		
2011	Po	95,50000		****	****		

Portalegre, Santarém e Évora foram os distritos com maior número total de pinhões em 2011, sendo significativamente diferentes dos outros dois (Viseu e Setúbal) (Fig. 26 e Tabela 8). Em 2012, os distritos com valores mais elevados foram Viseu e Santarém, nos quais se notaram diferenças significativas em relação aos outros três distritos. Entre campanhas, os únicos distritos onde se verificou um decréscimo significativo no número total de pinhões foi em Portalegre e em Évora, enquanto em Viseu se verificou um acréscimo significativo.

Verificou-se ainda uma correlação positiva de $r = 0,67$ ($p < 0,05$) entre o “peso verde” e o “número total de pinhões”.

A evolução da percentagem de pinhões vazios revelou aumentos entre as duas campanhas de 2010-2011 e 2011-2012 (Fig. 27). As diferenças entre anos foram significativas ($F(\text{local} \times \text{ano}) = 24,292$; $p < 0,001$; $gl = 4;632$) para todos os distritos amostrados, excepto Viseu. Portalegre e Évora foram os distritos que registaram maiores aumentos de pinhões vazios entre as duas campanhas (Fig. 28 e Tabela 9).

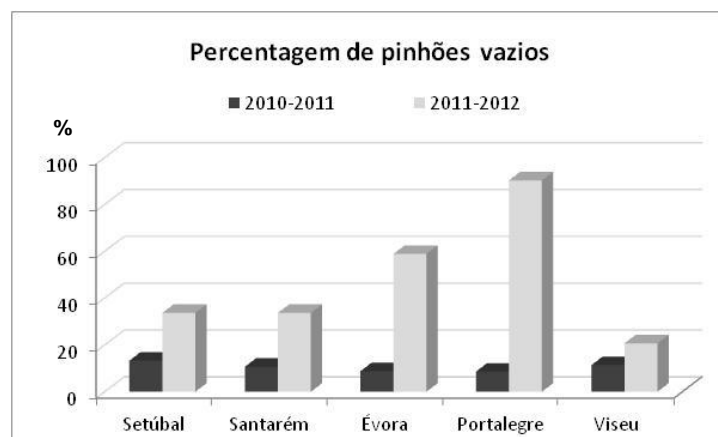


Figura 27 - Percentagem de pinhões vazios por distrito e por campanha (2010-2011 e 2011-2012).

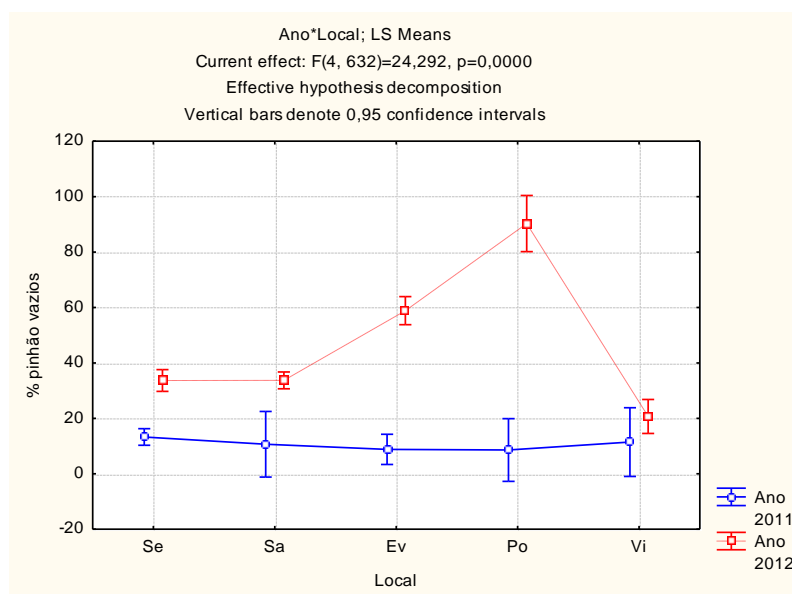


Figura 28 - Valores médios estimados por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhões vazios”.

Tabela 9 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogêneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhões vazios”.

Teste LSD de Grupos Homogêneos para a variável “Percentagem de pinhões vazios”; F(local*ano) = 24,292; p < 0,01 ; gl = 4;632,00							
Ano	Local	Percentagem de pinhões vazios	1	2	3	4	5
2011	Po	8,59091	****	****			
2011	Ev	8,80741	****				
2011	Sa	10,66440	****	****			
2011	Vi	11,43608	****	****			
2011	Se	13,27926	****				
2012	Vi	20,68381		****			
2012	Se	33,66520			****		
2012	Sa	33,71166			****		
2012	Ev	58,85649				****	
2012	Po	90,29940					****

Entre campanhas verificaram-se diferenças significativas em todos os distritos excepto Viseu. Na campanha de 2010-2011 o distrito com maior Percentagem de pinhões vazios foi Setúbal, mas ainda assim não foi significativamente diferente dos restantes. Por outro lado, na campanha seguinte todos os distritos diferiram significativamente entre si, à exceção de Setúbal e Santarém.

Na Figura 29 é possível observar uma pinha de 3ª primavera com pinhões vazios (em corte longitudinal).



Figura 29 - Pinhões vazios dentro de uma pinha de 3ª primavera em corte longitudinal (setas encarnadas).

Observou-se uma correlação (Spearman) negativa significativa de -0,34 (p < 0,05) entre o “número total de pinhões” e a “percentagem de pinhões vazios” (Fig. 30). Os valores mais contrastantes foram encontrados no ano de 2012 para os distritos de Évora e Portalegre.

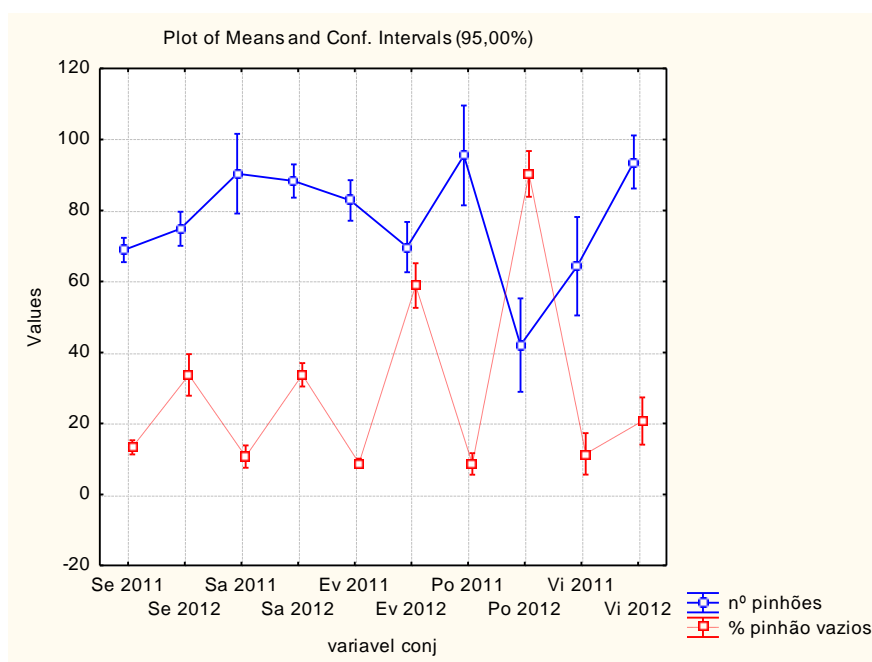


Figura 30 - Relação entre o “número total de pinhões” e a “percentagem de pinhões vazios” nos diferentes distritos para as duas campanhas analisadas.

Na ausência de conhecimento de sintomas e sinais específicos, não foi possível até ao momento identificar estragos visíveis provocados por *L. occidentalis* mas a avaliação deste material permitiu detetar a presença de outros agentes causadores de estragos nas pinhas, tais como o fungo *D. pinea* e os insetos *P. validirostris* e *D. mendacella* (Tabela 10).

Tabela 10 - Presença de *D. pinea*, *P. validirostris* e *D. mendacella* nas amostras de pinhas de cada distrito, nas campanhas de 2010-2011 e 2011-2012.

Campanha	Distrito	Percentagem de pinhas atacadas com <i>D. pinea</i>	Percentagem de pinhas atacadas com <i>P. validirostris</i>	Percentagem de pinhas atacadas com <i>D. mendacella</i>
2010-2011	Setúbal	6,5	12	0,0
2011-2012	Setúbal	24,8	24,4	1,7
2010-2011	Santarém	0,0	5	0,0
2011-2012	Santarém	25,4	2,4	0,3
2010-2011	Évora	23,1	8	9
2011-2012	Évora	41,7	40	21,7
2010-2011	Portalegre	25,0	0,0	5
2011-2012	Portalegre	13,3	13,3	86,7
2010-2011	Viseu	0,0	0,0	0,0
2011-2012	Viseu	19,5	2,2	0,0

4.1.2.1. Estragos devido à presença do fungo *D. pinea*

Apesar de a incidência de *D. pinea* ter aumentado (Fig. 31), não se verificaram acréscimos ou decréscimos significativos entre as campanhas de 2010-2011 e 2011-2012 e nos cinco analisados ($F(\text{local} \times \text{ano}) = 0,64801$; $p < 0,001$; $gl = 4,45$) (Fig. 32).

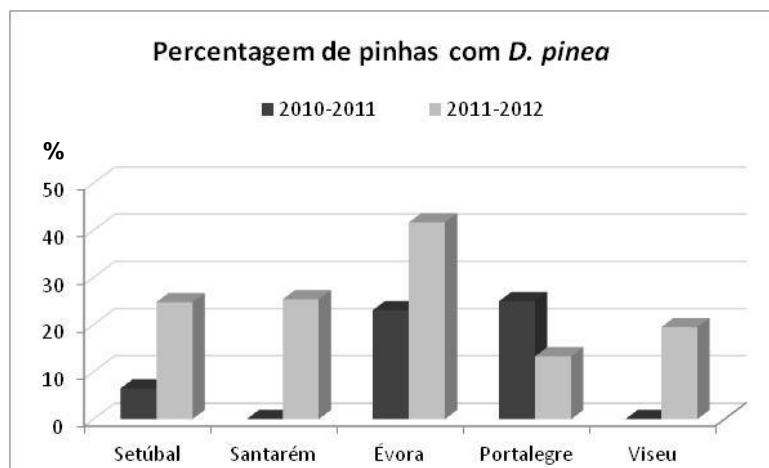


Figura 31 - Percentagem de pinhas com *D. pinea* nos diferentes distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011-2012.

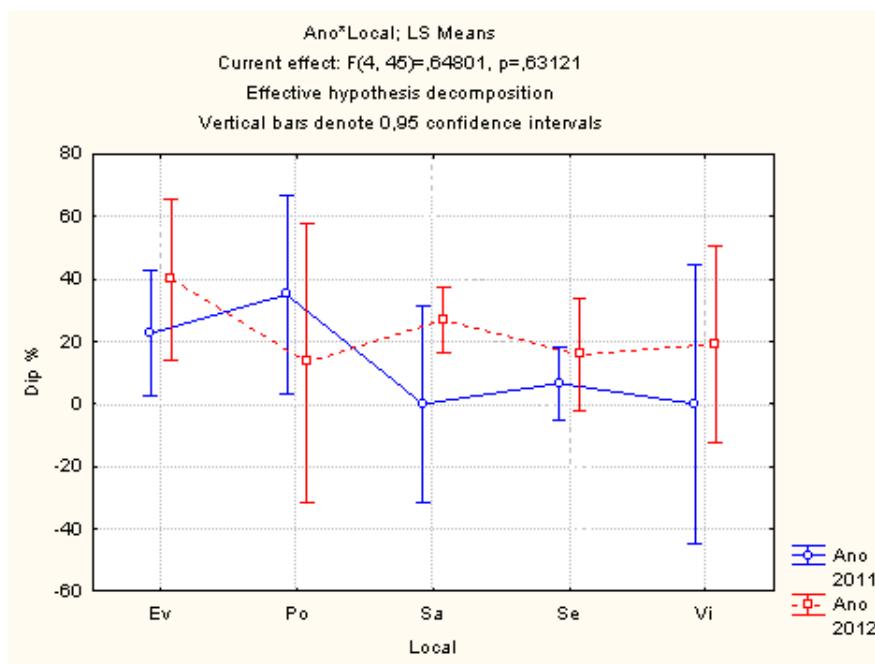


Figura 32 - ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “Percentagem de pinhas com *D. pinea*”.

4.1.2.2. Estragos devido à presença do inseto *P. validirostris*

P. validirostris registou aumento de incidência na campanha de 2011-2012 relativamente a 2010-2011, nos cinco distritos analisados, excepto Santarém (Fig. 33). A análise estatística revelou diferenças significativas entre distritos e campanhas

$F(\text{local} \times \text{ano}) = 2,9746$; $p < 0,001$; $gl = 4;45$) (Fig. 34 e Tabela 11). No entanto, apenas em Évora se verificou um acréscimo significativo de *P. validirostris* entre campanhas (Tabela 11). Na campanha de 2010-2011 Setúbal foi o distrito com maior percentagem de *P. validirostris* mas ainda assim não significativamente diferente dos restantes. Na segunda campanha o distrito onde se verificou mais incidência foi Évora, sendo significativamente diferente de Santarém e Viseu.

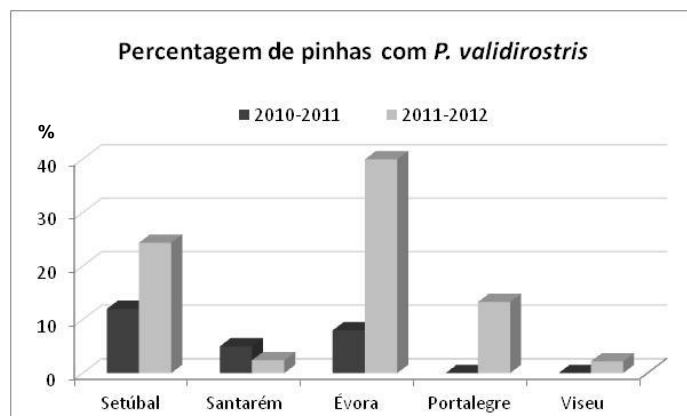


Figura 33 - Percentagem de pinhas com *P. validirostris* nos diferentes distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011- 2012.

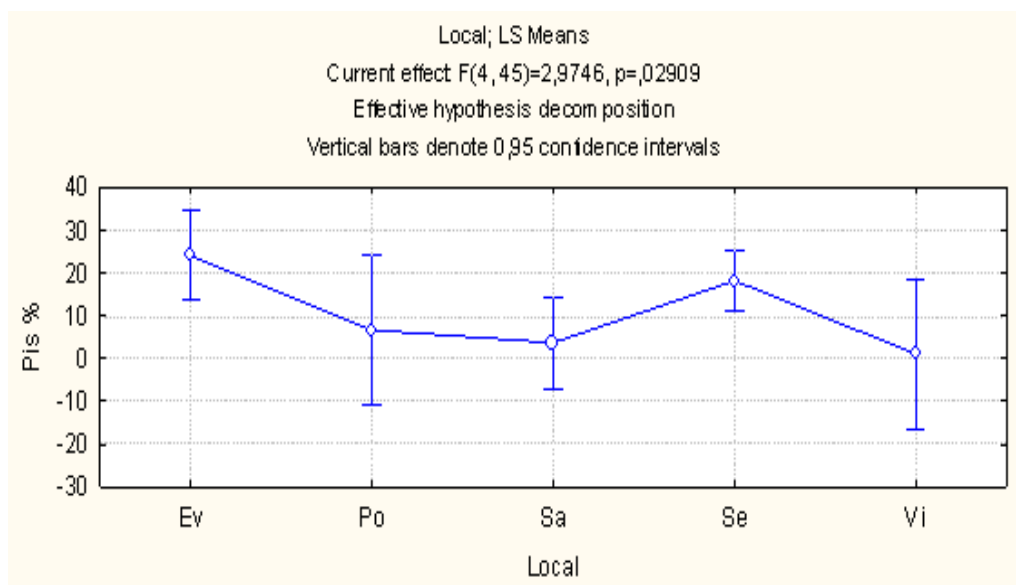


Figura 34 - Médias estimadas por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhas com *P. validirostris*”.

Tabela 11 - Resultados de ANOVA e Teste LSD (grupos homogêneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhas com *P. validirostris*”.

Teste LSD de Grupos Homogêneos para a variável “Percentagem de pinhas com <i>P. validirostris</i> ”; F(local*ano) = 2,9746; p < 0,001 ; gl = 4;45					
Ano	Local	Pis %	1	2	3
2011	Po	0,0	****		
2011	Vi	0,0	****	****	
2012	Vi	2,2	****	****	
2012	Sa	2,4	****		
2011	Sa	5,0	****	****	
2011	Ev	8,0	****	****	
2011	Se	12,0	****	****	
2012	Po	13,3	****	****	****
2012	Se	24,4		****	****
2012	Ev	40,0			****

4.1.2.3. Estragos devido à presença do inseto *D. mendacella*

Na presença de *D. mendacella* nas campanhas de 2010-2011 e 2011-2012 (Fig. 35), nos cinco distritos analisados verificou-se a existência de diferenças significativas entre distritos e campanhas. ($F(\text{ano}*\text{local}) = 15,973$; $p < 0,001$; $gl = 4;45$). Pela comparação estatística, Teste LSD, verificou-se em Évora e Portalegre um aumento significativo na “percentagem de pinhas atacadas com *D. mendacella*” entre as duas campanhas (Fig. 36 e Tabela 12). Na campanha de 2010-2011, o distrito com maior incidência da espécie foi Évora mas ainda assim não significativamente diferente dos restantes (exceto Setúbal). Na segunda campanha, Évora e Portalegre apresentaram percentagens de *D. mendacella*, significativamente superiores aos outros distritos.

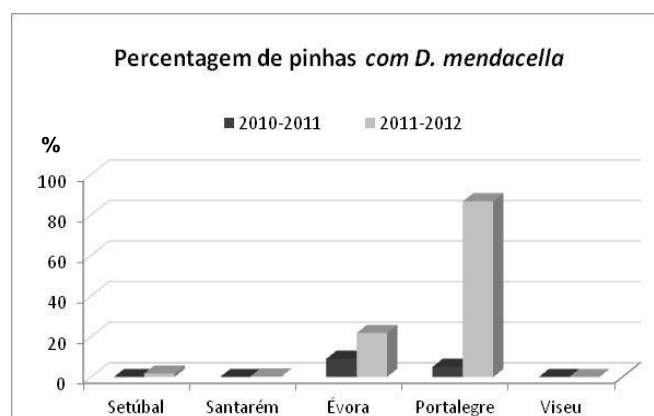


Figura 35 - Percentagem de pinhas com *D. mendacella* nos 5 distritos durante as campanhas de 2010-2011 e 2011- 2012.

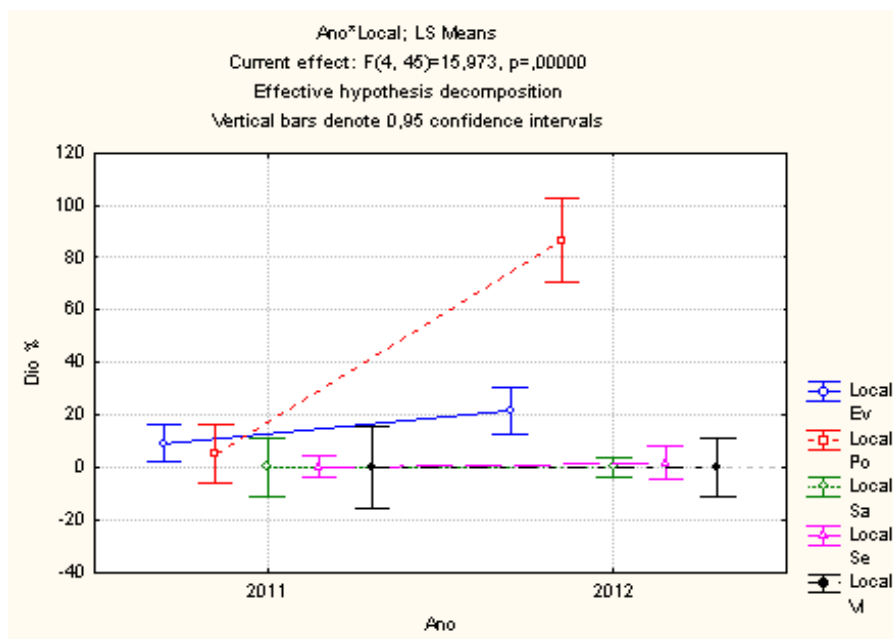


Figura 36 - Médias estimadas por ANOVA a dois fatores efetuada para a variável “percentagem de pinhas com *D. mendacella*”.

Tabela 12 - Resultados da ANOVA e Teste LSD (grupos homogéneos) efetuado para a variável “percentagem de pinhas com *D. mendacella*”.

Teste LSD de Grupos Homogéneos para a variável “Percentagem de pinhas com <i>D. mendacella</i> ”; F(ano*local) = 15,973; p < 0,001; p < 0,001; gl = 45						
Ano	Local	Dio %	1	2	3	4
2011	Vi	0,0	****	****		
2011	Sa	0,0	****	****		
2011	Se	0,0	****			
2012	Vi	0,0	****	****		
2012	Sa	0,3	****			
2012	Se	1,7	****	****		
2011	Po	5,0	****	****		
2011	Ev	9,0		****		
2012	Ev	21,7			****	
2012	Po	86,7				****

4.2. Estudo da biologia de *L. occidentalis* em Portugal

4.2.1. Capturas de *L. occidentalis* em condições naturais

Nas observações efetuadas em campo, entre Abril de 2013 e Novembro de 2013, capturou-se um total de 150 indivíduos (Tabela 13) através de duas técnicas (prospecção e recolha direta de insetos; armadilhas multi-funil). As capturas em armadilhas multi-funil deveram-se ao facto de os indivíduos adultos de *L. occidentalis* procurarem abrigo para hibernar. É de destacar o número de capturas realizadas no

PC de Alcácer do Sal (Agosto) e em Vale Feitoso (Novembro), de 97 e 36 indivíduos respetivamente.

Tabela 13 - Data, local, tipo de captura e número de *L. occidentalis* capturados ao longo do ano de 2013.

Data	Local	Tipo de captura/recolha	Nº de <i>L. occidentalis</i>
29.04.2013	Santa Suzana	Campo	4
21.08.2013	PC Alcácer do Sal	Campo	43
29.08.2013	PC Alcácer do Sal	Campo	54
18.10.2013	Comporta	Armadilha multi-funil	4
04.11.2013	Comporta	Armadilha multi-funil	4
04.11.2013	Base Aérea de Monte Real	Campo	4
11.11.2013	Abrantes	Campo	1
17.11.2013	Vale Feitoso	Armadilha multi-funil	36

Estes insetos foram utilizados para o estabelecimento de diferentes ensaios para avaliação do ciclo biológico de *L. occidentalis* em laboratório (§4.2.3).

No ensaio para avaliar a eficiência do uso de armadilhas, através de extratos de *P. pinea* e armadilhas de processionária, foram realizadas verificações periódicas e mudados os atrativos das armadilhas, não tendo sido possível recolher qualquer exemplar de *L. occidentalis*.

4.2.2. Avaliação do ciclo biológico em condições naturais

No ensaio referente à colocação de mangas com indivíduos de *L. occidentalis* nos parques clonais (8 de Agosto 2012), efetuaram-se verificações periódicas para avaliação da taxa de sobrevivência e evolução do ciclo de vida dos insetos (Tabelas 14 e 15).

Tabela 14 - Número e estágio de *L. occidentalis* observados nas quatro mangas colocadas no PC de Coruche, entre Agosto e Novembro de 2012 (data inicial de 8 de Agosto de 2012).

Data	Indivíduos			
	Manga nº 1	Manga nº 2	Manga nº 3	Manga nº 4
8-8-2012	4 adultos	2 adultos	2 adultos	10 ninfas do 2º instar
24-8-2012	3 adultos	1 adulto	1 adulto	0
5-11-2012	0	0	0	-

Tabela 15 - Número e estágio de *L. occidentalis* observados nas cinco mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal, entre Agosto de 2012 e Abril de 2013.

Data	Indivíduos				
	Manga nº 1	Manga nº 2	Manga nº 3	Manga nº 4	Manga nº 5
8-8-2012	8 adultos	10 ninfas do 2º instar	6 ninfas do 4º instar	10 ninfas do 3º instar	10 ninfas do 1º instar
21-9-2012	4 ninfas do 2º instar	1 adulto	3 adultos	10 adultos	0
5-11-2012	4 adultos	1 adulto	3 adultos	10 adultos	-
3-4-2013	4 adultos	1 adulto	3 adultos	10 adultos	-

Todos os insetos colocados nas mangas do PC de Coruche foram identificados como mortos no dia 24 de Agosto de 2013 (manga nº 4) e 5 de Novembro de 2012 (mangas restantes) (Tabela 14). Os insetos não se desenvolveram nas condições do ensaio e acabaram por morrer. Pelo contrário, nas mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal (Tabela 15) foi possível obter com sucesso vários exemplares de *L. occidentalis* adultos, evidenciando que no campo os insetos passaram de estágio, atingindo em alguns casos a fase adulta (exceto na manga nº 5). É possível constatar que na manga nº 2 obteve-se um exemplar adulto, o que indica uma taxa de mortalidade de 90%. Na manga nº 3 obtiveram-se 3 indivíduos adultos (50%) e na manga nº 4 todas as ninfas de 3º instar chegaram ao estado adulto. Nas observações efetuadas na manga nº 1, verificou-se que 50% dos adultos sobreviveram até ao final do ensaio.

4.2.3. Avaliação do ciclo de vida de *L. occidentalis* em laboratório

- Acompanhamento do desenvolvimento das posturas

Os resultados relativos posturas indicam que o valor média de ovos por postura variou entre os 8,9 e os 10,6 (máximo e mínimo de 17 e 2, respetivamente) e a percentagem de ovos eclodidos foi sempre superior a 87% em qualquer um dos três ensaios (máximo e mínimo de 17 e 1, respetivamente) (Tabela 16). O número de dias para a eclosão variou entre um mínimo de 8 e um máximo de 17,1 dias.

Tabela 16 - Informação relativa aos 3 ensaios de posturas de *L. occidentalis* (2012 e 2013), em relação ao número de posturas, número de ovos, número de ovos eclodidos e número de dias para a eclosão. (\bar{x} = média, σ = erro padrão).

Medições ($\bar{x} \pm \sigma$)	Ensaio		
	1º (Jun de 2012)	2º (Abr de 2013)	3º (Set de 2013)
Número de posturas	11	39	1
Número de ovos/postura	10,6 \pm 2,3	8,9 \pm 3,5	9
Número de ovos eclodidos/postura	10,2 \pm 2,3	7,8 \pm 3,9	8
Número de dias para eclosão dos ovos	9,1 \pm 1,4	17,1 \pm 3	8

Verificou-se diferenças significativas no número de dias para a eclosão consoante a altura do ano (Junho, Julho e Agosto de 2012 e Abril, Maio, Junho e Setembro de 2013) ($F(\text{data}) = 14,259$; $p < 0,001$; $gl = 6$; 44), principalmente para os meses de Abril e Maio de 2013 (Fig. 37 e Tabela 17). Em relação ao número de ovos por postura e número de ovos eclodidos (Tabela 18), não se verificaram diferenças significativas em nenhum dos ensaios.

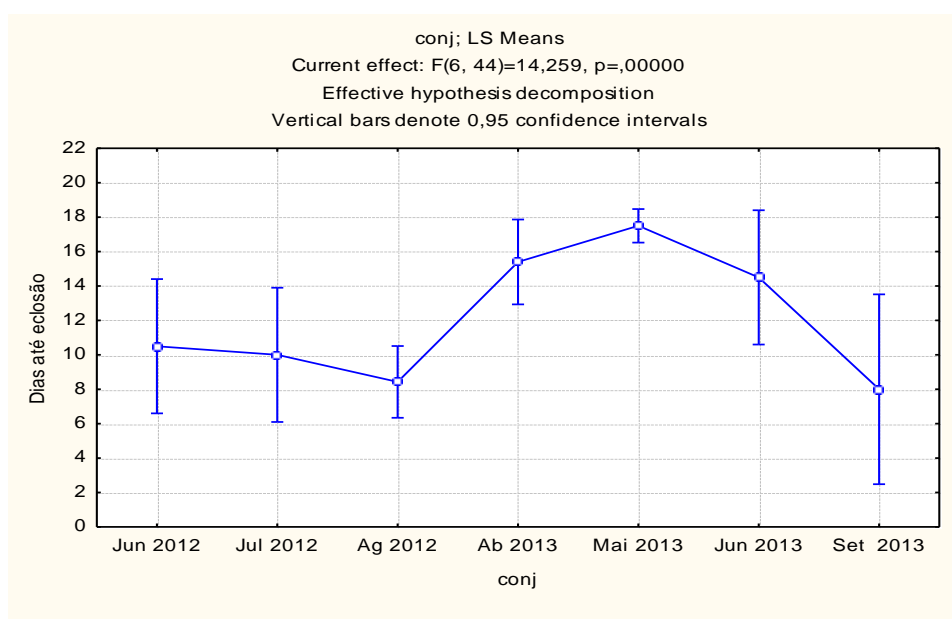


Figura 37 - Médias estimadas por ANOVA a um fator (Teste LSD) efetuada para a variável “número de dias para a eclosão”.

Tabela 17 - ANOVA a um fator (teste LSD) efetuada para a variável “número de dias para a eclosão”, onde $F(\text{data}) = 14,25920$; $p < 0,001$; $gl = 44$.

Teste LSD para a variável “número de dias para a eclosão”; $F(\text{data}) = 14,25920$; $p < 0,001$; $gl = 6;44$.				
Mês/ano	Dias até eclosão	1	2	3
Set 2013	8,0	****	****	
Ago 2012	8,4	****		
Jul 2012	10,0	****	****	
Jun 2012	10,5	****	****	
Jun 2013	14,5		****	****
Abr 2013	15,4			****
Mai 2013	17,5			****

Tabela 18 - Média por mês, ano e geral do número de ovos por postura e número de ovos eclodidos.

		Dados	
Ano	Mês	Média de Numer. de ovos	Média de Num. de ovos eclodidos
2012	Junho	12,5 ± 2,1	12,5 ± 2,1
	Julho	13 ± 1,4	12,5 ± 0,8
	Agosto	9,43 ± 1,8	8,9 ± 1,5
	2012 Total	10,6 ± 2,3	10,2 ± 2,3
2013	Abril	8,4 ± 3,4	8 ± 3,7
	Maio	8,9 ± 3,3	7,6 ± 3,7
	Junho	9,5 ± 9,2	9,5 ± 9,2
	Setembro	9	8
2013 Total		8,9 ± 3,5	7,8 ± 3,8
Total Geral		9,3 ± 3,3	8,23 ± 3,7

As ninfas do 1º instar eclodidas foram mantidas em laboratório, segundo diferentes metodologias consoante os ensaios (§3.2.3.). O desenvolvimento foi seguido diariamente nas fases iniciais (Tabela 19).

Tabela 19 - Número de dias de cada instar e taxa de sobrevivência das ninfas eclodidas nas 3 gerações de posturas (2012 e 2013).

Número de dias de cada instar (\bar{x}) e taxa de sobrevivência	Ensaio		
	1º (Jun 2012)	2º (Abr 2013)	3º (Set 2013)
Número de dias de 1º instar	4,4	7,6	6
Taxa de sobrevivência de 1º instar	93,6%	100%	100%
Número de dias de 2º instar	5,7	19,9	18
Taxa de sobrevivência de 2º instar	0%	0%	25%
Número de dias de 3º instar	-	-	12,5
Taxa de sobrevivência de 3º instar	-	-	100%
Número de dias de 4º instar	-	-	10,5
Taxa de sobrevivência de 4º instar	-	-	100%
Número de dias de 5º instar	-	-	9
Taxa de sobrevivência de 5º instar	-	-	100%
Número de dias de sobrevivência totais	10,1	27,5	74

Durante os três ensaios constatou-se que as ninfas de 1º instar demoraram entre 4,4 e 7,6 dias a atingir a 2ª fase ninfal e apresentam altas taxas de sobrevivência. As ninfas de 2º instar sobreviveram entre 5,7 e 19,9 dias, revelando uma taxa de mortalidade de 100% nos dois primeiros ensaios (Fig 38 e 39).

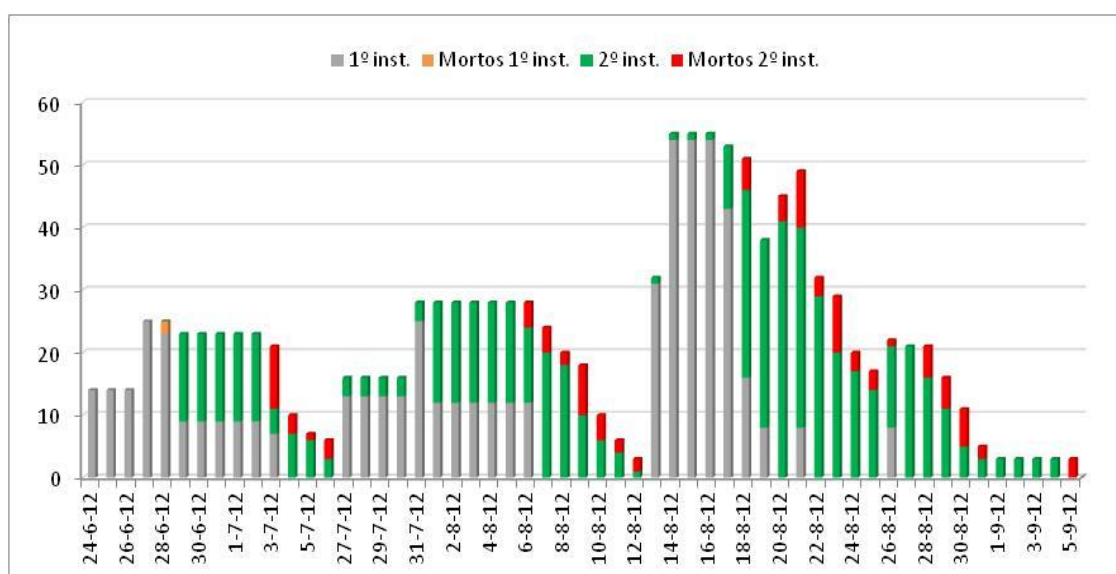


Figura 38 - Evolução das ninfas eclodidas no 1º ensaio de posturas (24 de Junho de 2012), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.

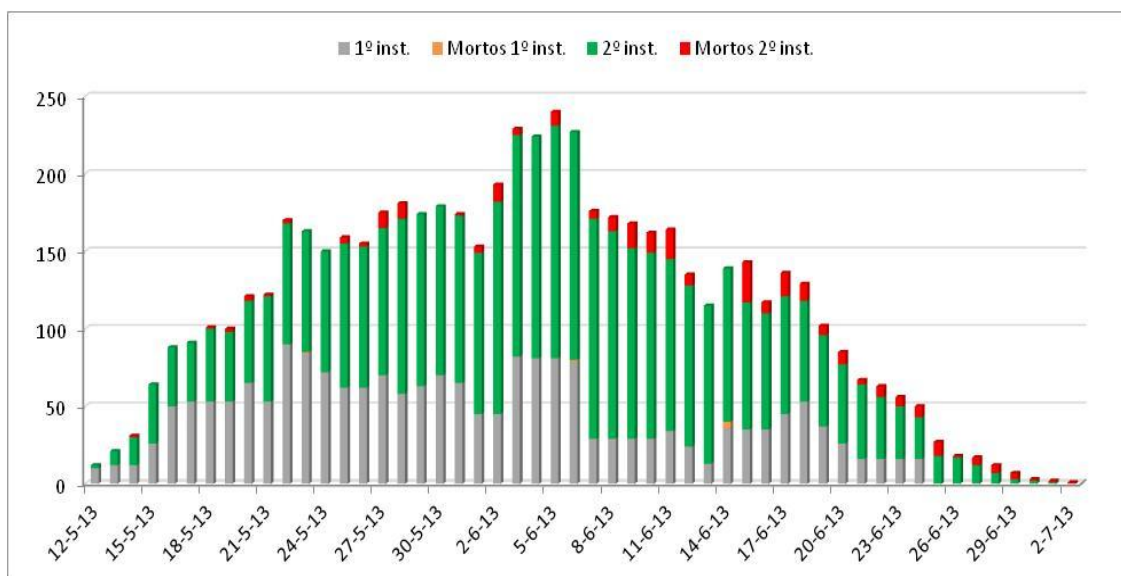


Figura 39 - Evolução das ninfas eclodidas no 1º ensaio de posturas (29 de Abril de 2013), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.

Apenas foi possível obter ninfas do 3º instar (duas, correspondente a 25%) a partir de posturas eclodidas no dia 20 de Setembro de 2013 (3º ensaio). A duração média da fase de 3º instar destas duas ninfas foi de 12,5 dias, sendo que o número de dias de duração média do 4º e 5º instar foi de 10,5 e 9, respetivamente (Fig. 40).

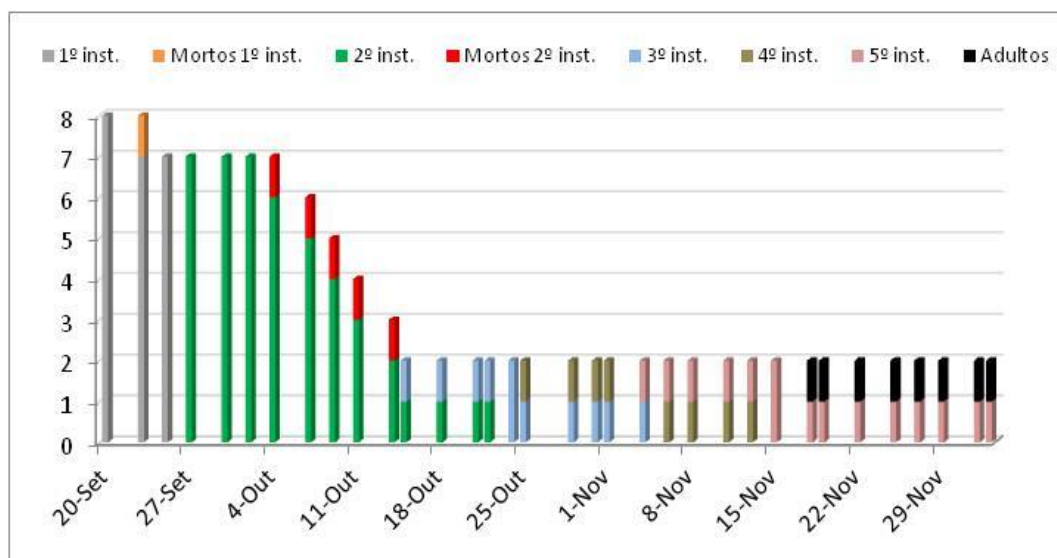


Figura 40 - Evolução das ninfas eclodidas no 3º ensaio de posturas (20 de Setembro de 2013), em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar.

- Acompanhamento do desenvolvimento das ninfas capturadas em campo

O ensaio correspondente às ninfas de *L. occidentalis* capturadas no PC de Alcácer do Sal foi iniciado em 21 de Agosto de 2013. As ninfas de 1º, 2º e 3º instar foram colocadas numa caixa (4 de 1º instar, 8 de 2º instar e 2 de 3º instar). No dia 29

de Agosto de 2013 foram capturados mais 7 indivíduos de 1º instar, 24 de 2º instar e 6 de 3º instar no mesmo local, os quais foram colocados em conjunto com os anteriores. A evolução do seu desenvolvimento foi seguido periodicamente e os resultados descritos na Figura 41.

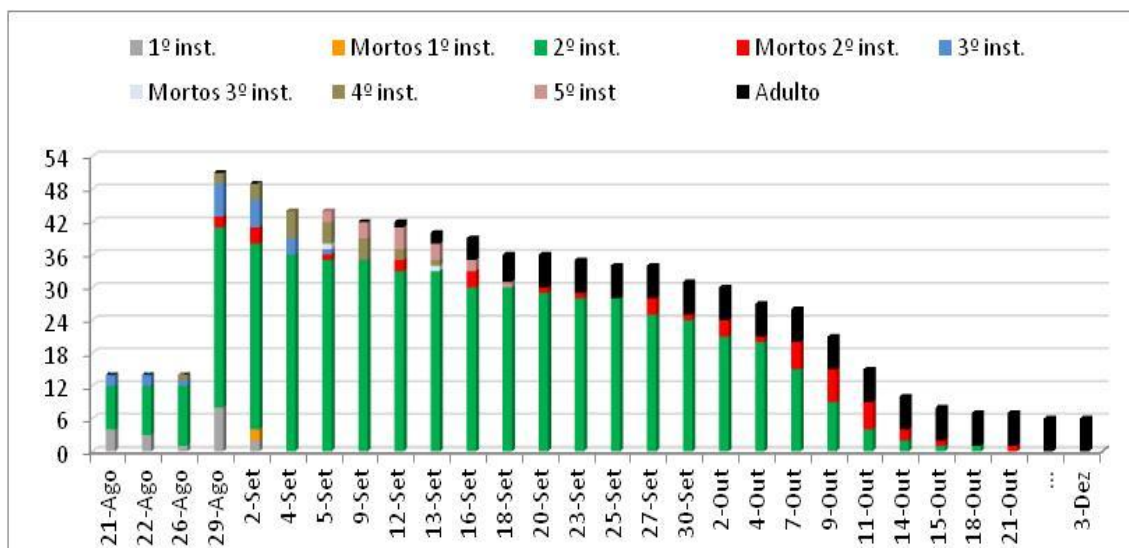


Figura 41 - Evolução das ninfas de 1º, 2º e 3º instar capturadas no PC de Alcácer do Sal no dia 21 de Agosto de 2013, em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturados mais 7 indivíduos de 1º instar, 24 de 2º instar e 6 de 3º instar, os quais foram colocados em conjunto com os anteriores.

A maioria das ninfas de 1º instar conseguiu atingir o 2º instar (88,9%), mas nenhuma atingiu o 3º instar (Fig. 41). Por sua vez, 75% das ninfas de 3º instar passaram ao 4º instar (duração do 3º instar: 8 dias) e todas ninfas atingiram o 5º instar (duração do 4º instar: 7 dias) e adulto (duração do 5º instar: 8 dias). Até ao término do ensaio não se verificou nenhum indivíduo adulto morto.

No caso das ninfas de 4º e 5º instar capturadas no dia 21 de Agosto de 2013 no PC de Alcácer do Sal, estas foram colocadas separadamente, com 15 indivíduos de 4º instar e 6 de 5º instar (Fig. 42). Em 29 de Agosto de 2013 foram capturadas mais 9 ninfas de 4º instar e 6 ninfas de 5º instar no mesmo local, as quais foram colocadas em conjunto com as anteriores. A maioria das ninfas de 4º e 5º instar atingiram a fase adulta (81%), com uma duração de 8 dias em cada um dos instares. Até ao final do ensaio não se verificou nenhum inseto adulto morto.

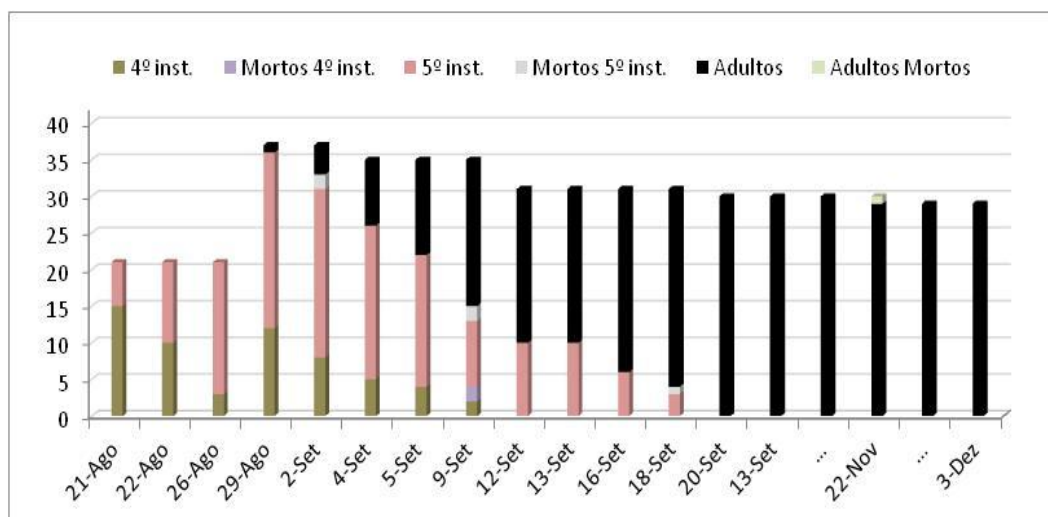


Figura 42 - Evolução das ninfas de 4 e 5º instar capturadas no PC de Alcácer do Sal no dia 21 de Agosto de 2013, em que se pode verificar os indivíduos vivos e mortos de cada instar. No dia 29 de Agosto de 2013 foram capturadas mais 9 ninfas de 4º instar e 6 ninfas de 5º instar, as quais foram colocadas em conjunto com as anteriores.

- Acompanhamento do desenvolvimento dos adultos capturados em campo

Após o término do ensaio correspondente às mangas colocadas no PC de Alcácer do Sal, os indivíduos sobreviventes (n=18) foram seguidos periodicamente em laboratório a partir do dia 2 de Abril de 2013 (Tabela 20 e Fig. 43). Durante este ensaio foram capturados 4 exemplares de *L. occidentalis* adultos em Santa Suzana (29 de Abril de 2013), que foram seguidos numa outra caixa. No total estes realizam 39 posturas em laboratório (Tabela 20). Os insetos provenientes das mangas sobreviveram 85 dias e os de Santa Suzana 60 dias.

Tabela 20 - Origem, número de insetos e número de posturas realizadas relativas aos adultos provenientes das mangas do PC de Alcácer do Sal (2 de Abril de 2013) e capturados em Santa Suzana (29 de Abril de 2013).

Origem	Número de Insetos	Número de posturas realizadas
Manga 1 PC A.S.	4	5
Manga 2 PC A.S.	1	0
Manga 3 PC A.S.	3	4
Manga 4 PC A.S.	10	21
St. Suzana	4	9

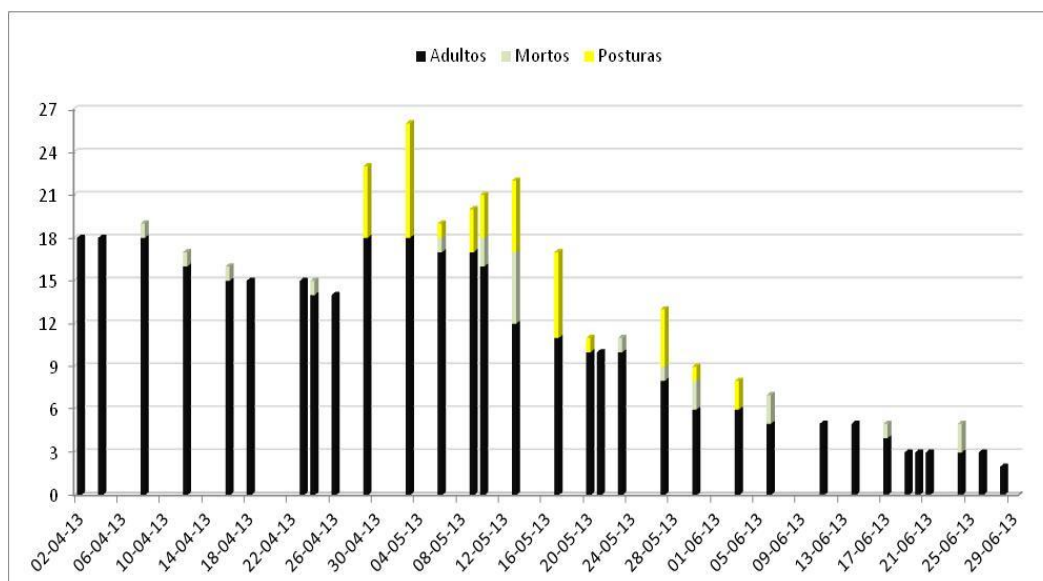


Figura 43 - Evolução dos indivíduos adultos provenientes das mangas do PC de Alcácer do Sal (2 de Abril de 2013) e dos insetos capturados em Santa Suzana (29 de Abril de 2013).

O ensaio correspondente aos adultos de *L. occidentalis* capturados no PC de Alcácer do Sal foi iniciado no dia 21 de Agosto de 2013 com 8 indivíduos (Fig. 44). No dia 29 de Agosto de 2013 foi capturado mais 1 indivíduo no mesmo local, no dia 18 de Outubro de 2013 foram capturados mais 4 indivíduos na Comporta e no dia 4 de Novembro foram capturados outros 4 insetos na Comporta, os quais foram colocados em conjunto com os adultos capturados no dia 21 de Agosto de 2013.

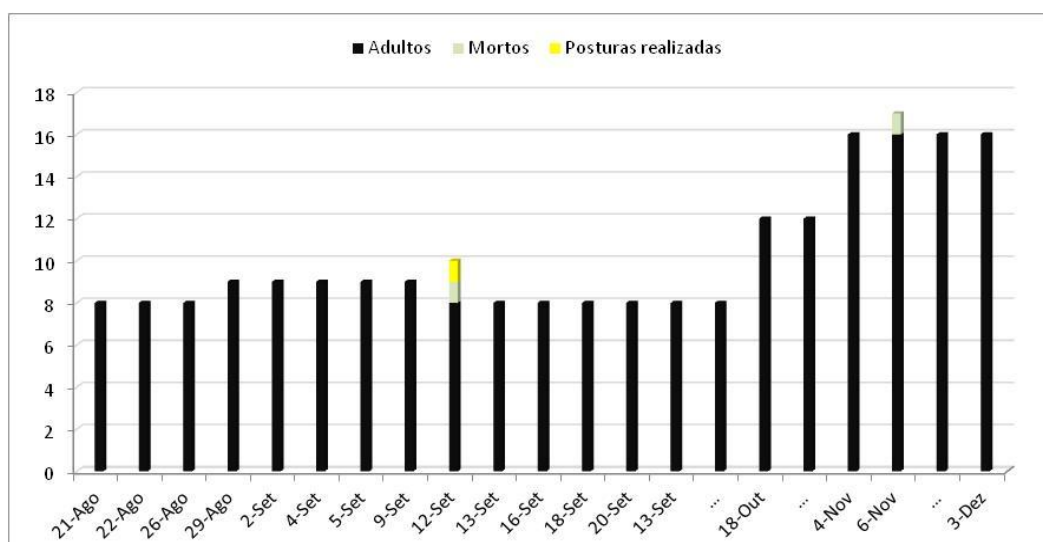


Figura 44 - Evolução dos indivíduos adultos de *L. occidentalis* capturados no PC de Alcácer do Sal e Comporta (início a 21 de Agosto de 2013). No dia 29-08-2013 foi capturado 1 indivíduo adulto no PC de Alcácer do Sal e nos dias 18-10-2013 e 4-11-2013 foram capturados 8 indivíduos na Comporta (4 em cada dia), os quais se colocaram em conjunto com os anteriores.

Dos 18 insetos adultos, apenas 2 (11,1%) morreram (Fig. 44). Durante este período foi colocada somente uma postura no dia 12 de Setembro de 2013 (correspondente ao 3º ensaio de posturas).

No ensaio correspondente aos insetos adultos capturados na Base Aérea de Monte Real não se verificou nenhum inseto morto ou postura realizada até ao fim do ensaio (3 de Dezembro de 2013).

Em relação aos insetos adultos capturados em Vale Feitoso e Abrantes, 2 indivíduos morreram respetivamente no dia 29-11-2013 e 3-12-2013, não tendo sido possível verificar nenhuma postura realizada até ao final do ensaio.

As Figuras 45 e 46 ilustram o desenvolvimento dos indivíduos de *L. occidentalis* (ninfas e adultos) de todos os ensaios em condições de laboratório nos anos de 2012 (24 de Junho até 5 de Setembro) e 2013 (12 de Maio até ao dia 3 de Dezembro), sob forma de percentagem. A percentagem de indivíduos de 1º e 2º instar em 2012 foi semelhante ao longo do tempo, com uma predominância do 1º instar no início e do 2º instar no final do ensaio, o que se deveu à elevada mortalidade observada. Em 2013 (Fig. 46) obtiveram-se todos os instares, com predominância de adultos no início e final, após completarem o seu desenvolvimento. Conseguiu-se obter posturas em laboratório e integrar um ciclo de desenvolvimento completo.

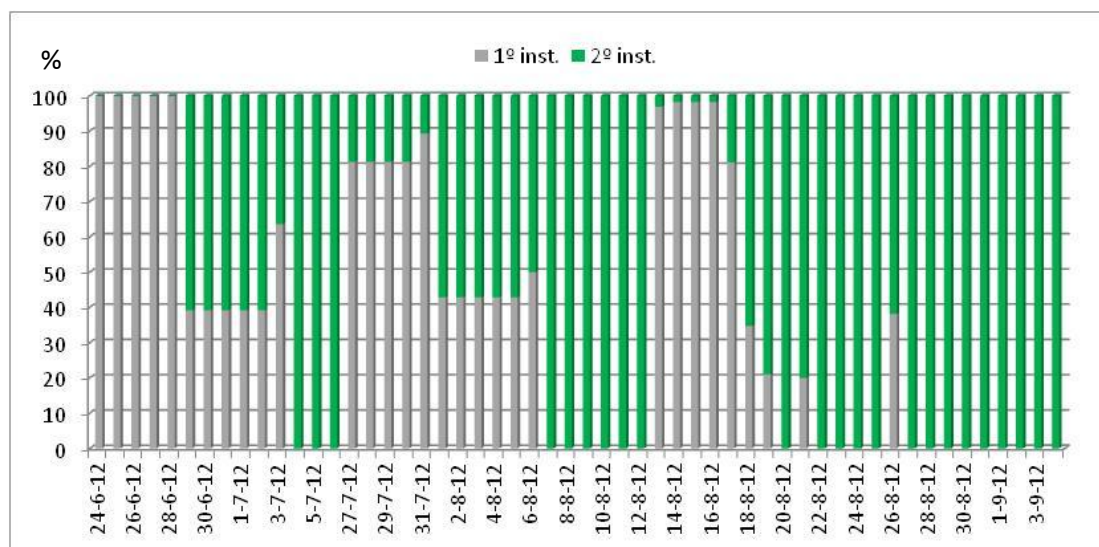


Figura 45 - Desenvolvimento dos indivíduos de *L. occidentalis* em condições de laboratório desde o dia 24 de Junho de 2012 até ao dia 5 de Setembro de 2012, sob forma de percentagem.

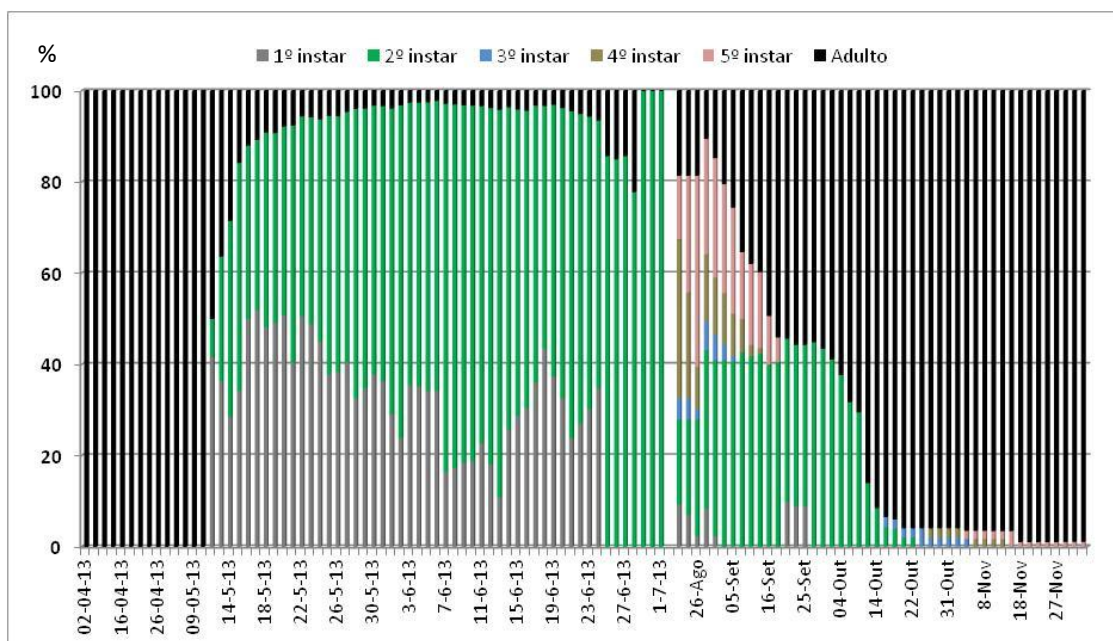








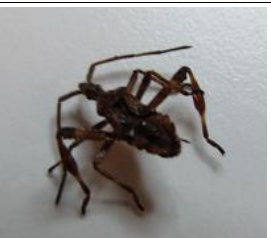




Figura 46 - Desenvolvimento dos indivíduos de *L. occidentalis* (ninfas e adultos) em condições de laboratório desde o dia 12 de Maio de 2013 até ao dia 3 de Dezembro de 2013, sob forma de percentagem.

As diferenças anatómicas entre os vários estádios de desenvolvimento de *L. occidentalis*, bem como as respectivas exúvias foram fotografadas (Tabela 21).

Tabela 21 - Diferentes instares e respectivas exúvias de *L. occidentalis* fotografados durante o estudo realizado em §4.2.3..

Instar	Inseto	Exúvia
1º		
2º		
3º		
4º		
5º		
Adulto		

4.2.4. Determinação do comprimento do estilete e do corpo do *L. occidentalis*

Os resultados referentes às medições do comprimento do estilete e do corpo são apresentados na Tabela 22 e na Figura 47. É possível verificar que o comprimento

do estilete aumenta consideravelmente do 1º (2,85mm) para o 2º instar ninfal (7,2mm) (2,5x mais), ultrapassando o comprimento do corpo (4,13mm). No 3º instar o comprimento do estilete aumenta ligeiramente e o do corpo aumenta substancialmente (2,2x mais), ficando os dois comprimentos com valores semelhantes (9mm). No 4º e 5º instar ambos os comprimentos aumentam ligeiramente e apresentam valores bastante próximos. No estado adulto, o comprimento do corpo aumenta 1,4x, mas o do estilete mantém-se inalterado.

Tabela 22 - Medições efetuadas no comprimento do estilete e corpo de indivíduos de *L. occidentalis* (\bar{x}) e respetivo rácio (comp. estilete / comp. corpo).

Instar	Comprimento do estilete em mm (\bar{x})	Comprimento do corpo em mm (\bar{x})	Rácio (comp. estilete / comp. corpo)
1º	2,85	3,14	0,907643
2º	7,20	4,13	1,743341
3º	9,22	8,98	1,026726
4º	11,25	11,02	1,020871
5º	12,36	12,14	1,018122
Adulto	12,34	16,86	0,73191

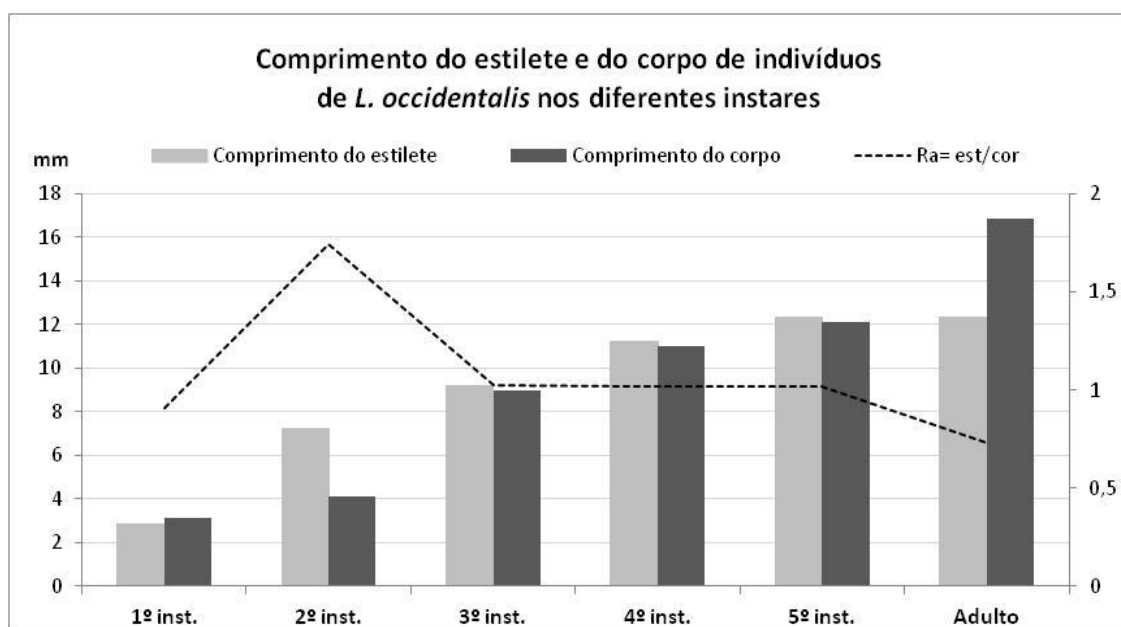


Figura 47 - Gráfico correspondente às medições efetuadas no comprimento do estilete (mm), comprimento do corpo (mm) e respetivo rácio (Ra) (comp. estilete / comp. corpo) nos vários estádios de desenvolvimento de *L. occidentalis*.



Figura 48 - Ninfas do 2º instar onde se pode observar que o comprimento do estilete (7,5 mm) (encurvado na imagem) ultrapassa o tamanho do corpo (4,5mm).

4.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-mansão

4.3.1. Estudo da fenologia reprodutiva

Nas Tabelas 23 e 24 é possível visualizar os diferentes estádios de desenvolvimento das estruturas reprodutivas femininas e masculinas observadas durante as observações realizadas nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche.

Tabela 23 - Fenologia das estruturas reprodutivas de pinheiro-mansão (femininas e masculinas) verificada nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2012).

Data		1 de Março	13 de Junho	27 de Junho	7 de Agosto
Estruturas femininas	1ª primavera	Primórdios das flores femininas	Flores com escamas fechadas	Flores com escamas fechadas	Flores em estado quiescente
	2ª primavera	Pinha em estado quiescente	Pinha em estado quiescente	Pinha em estado quiescente	Pinha em estado quiescente
	3ª primavera	Pinha em crescimento	Pinha em crescimento	Pinha em crescimento	Pinha em crescimento
Estruturas masculinas		Primórdios das flores masculinas	Pinhas polínicas necrosadas e secas	Pinhas polínicas necrosadas e secas	Novo ápice formado

Tabela 24 - Fenologia das estruturas reprodutivas de pinheiro-mansô (femininas e masculinas) verificada nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2013).

Data		2 de Abril	2 de Maio	28 de Maio
Estruturas femininas	1ª primavera	Primórdios das flores femininas	Flores totalmente recetivas ao pólen (plena floração)	Flores com escamas parcialmente fechadas
	2ª primavera	Pinha em estado quiescente	Pinha em estado quiescente	Pinha em estado quiescente
	3ª primavera	Pinha em crescimento	Pinha em crescimento	Pinha em crescimento
Estruturas masculinas		Primórdios das flores masculinas	Libertação do pólen (plena polinização)	Pinhas polínicas necrosadas e secas

Em 2012 verificou-se que a 1 de Março os ápices que iriam dar origem a flores femininas e masculinas ainda se encontravam em desenvolvimento, tal como em 2 de Abril de 2013. No dia 2 de Maio de 2013 foi possível observar as flores totalmente recetivas (plena floração) e os cachos polínicos a libertar grandes quantidades de pólen (plena polinização). Em 28 de Maio de 2013 as flores apresentavam as escamas parcialmente fechadas e as pinhas polínicas já tinham necrosado e secado. No dia 13 e 27 de Junho de 2012 as flores apresentavam as escamas totalmente fechadas e as pinhas polínicas necrosadas e secas. Em 7 de Agosto de 2012 verificaram-se poucas alterações na flor feminina (estado quiescente) e foi possível observar a formação de novos ápices. No caso das pinhas de 2ª primavera, em 2012 e 2013 não foi possível observar grandes diferenças entre as observações, indicando que as pinhas quiescentes se encontravam a crescer a uma taxa reduzida. Em relação às pinhas de 3ª primavera, constatou-se em ambos os anos que se encontravam em pleno crescimento.

Nas observações de campo realizadas no PC de Coruche, efetuaram-se contagens das árvores com flores/pinhas referentes à 1ª, 2ª e 3ª primavera (Fig. 49 e 50).

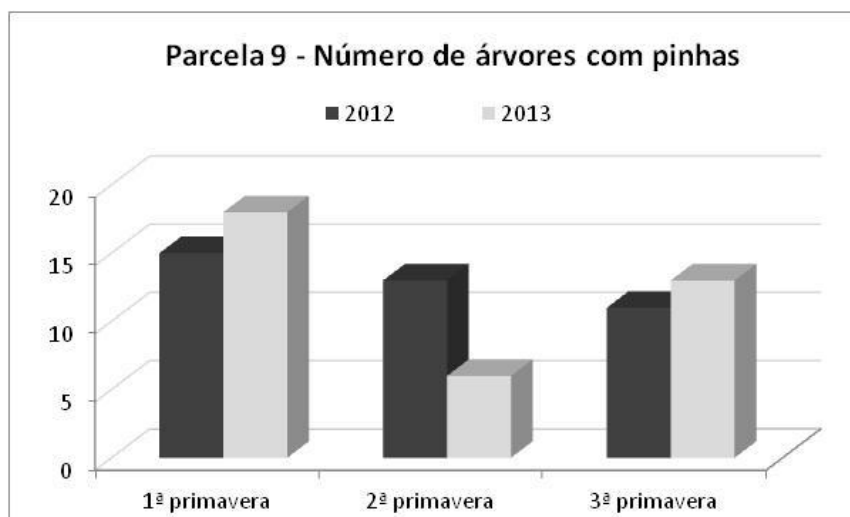


Figura 49 - Número de árvores com pinhas de 1ª; 2ª e 3ª primaveras na parcela nº 9 do PC de Coruche (2012 e 2013).

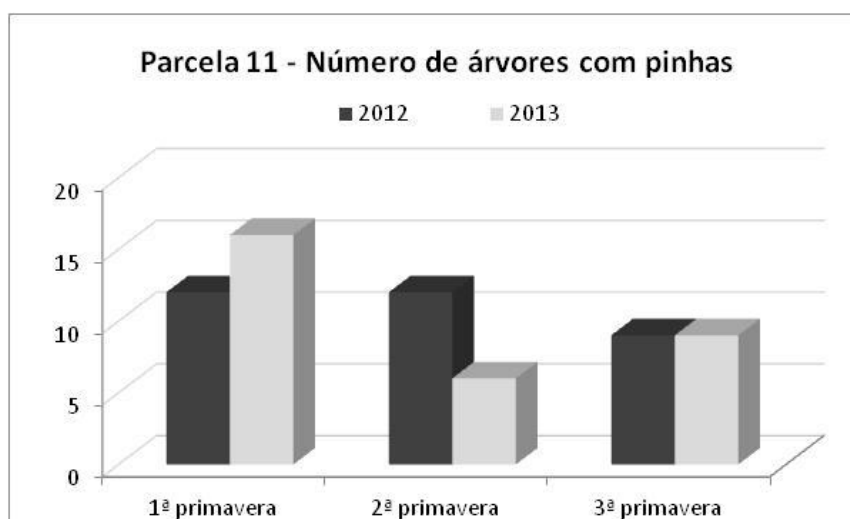


Figura 50 - Número de árvores com pinhas de 1ª; 2ª e 3ª primaveras na parcela nº 11 do PC de Coruche (2012 e 2013).

O número de árvores com pinhas nos 3 estádios de desenvolvimento na parcela nº 9 foi, em geral, superior à parcela nº 11. A quantidade de árvores com pinhas de 2ª primavera foi mais baixa do que as de 1ª e 3ª primaveras para as duas parcelas, especialmente no ano de 2013 em que ocorreu uma diminuição de cerca de 50% em relação a 2012. No ano de 2013 também se constatou um aumento de pinhas de 1ª primavera em relação ao ano anterior (20% e 33,3% respetivamente nas duas parcelas). No caso das pinhas de 3ª primavera, na parcela 9 houve um aumento de 27% e na parcela 11 os valores igualaram-se.

Posteriormente procedeu-se à contagem de estruturas reprodutivas femininas/árvore e foi possível perceber a evolução que ocorreu entre o ano de 2012 e 2013, no que trata à sua quantidade (Tabelas 25 e 26 e Figuras 51, 52, 53 e 54).

Tabela 25 - Contabilização de pinhas e respetiva média por árvore referentes aos 3 estádios de desenvolvimento nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2012).

	Parcela 9		Parcela 11	
Desenvolvimento	Total	Média	Total	Média
1ª primavera	98	4,9	37	1,85
2ª primavera	55	2,75	21	1,05
3ª primavera	31	1,55	9	0,45

Tabela 26 - Contabilização de pinhas e respetiva média por árvore referentes aos 3 estádios de desenvolvimento nas parcelas 9 e 11 do PC de Coruche (2013).

	Parcela 9		Parcela 11	
Desenvolvimento	Total	Média	Total	Média
1ª primavera	228	11,4	81	4,05
2ª primavera	16	0,8	12	0,6
3ª primavera	35	1,75	15	0,75

Na parcela 9 a totalidade e a média de pinhas por árvore de 1ª primavera aumentaram 133% de 2012 para 2013. Na parcela 11 houve igualmente um aumento, com valores de 119%. Nas pinhas de 2ª primavera, registou-se uma diminuição na ordem dos 71% na parcela 9 e de 43% na parcela 11. As pinhas de 3ª primavera, não sofreram alterações tão acentuadas, no entanto na parcela 9 houve um ligeiro aumento de 13% e na parcela 11 um aumento de 67%, sendo possível prever que a diferença de produção de pinha nesta área não será notória nestes dois anos.

No ano de 2013 ao efetuar as contagens das pinhas de 2ª primavera, conseguiu-se relacioná-las com as respetivas flores que lhe deram origem, *i.é.*, com as pinhas de 1ª primavera de 2012. Desta quebra pode ter-se a perceção da mortalidade de pinhas de 1ª primavera que ocorreu nas parcelas onde foram efetuados os registos. Da mesma forma foi possível comparar as pinhas de 3ª primavera de 2013 com as de 2ª primavera de 2012 (Fig. 51). Constata-se para as duas parcelas uma elevada taxa de mortalidade de pinhas durante o seu 1º ano de desenvolvimento, com valores de 84% e 68%, respetivamente. Já no seu 2º ano de desenvolvimento a taxa de mortalidade é menor, situando-se nos 36% e 29%, respetivamente (Fig. 52).

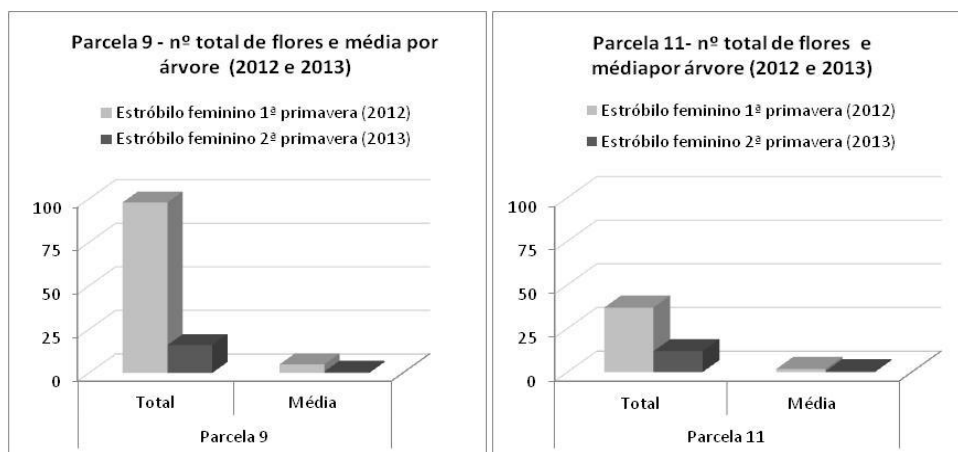


Figura 51 - Número total de estróbilos femininos de 1ª primavera (2012) e 2ª primavera (2013) e média por árvore das parcelas 9 (esquerda) e 11 (direita) do PC de Coruche.

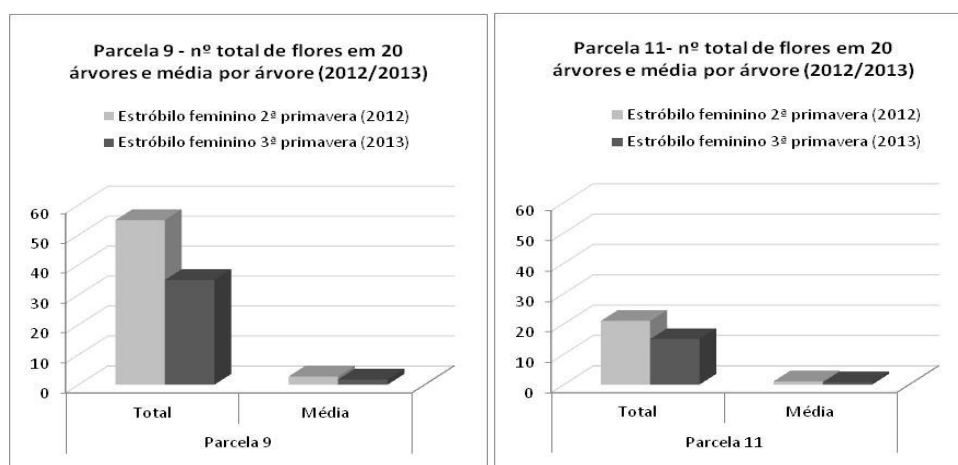










Figura 52 - Número total de estróbilos femininos de 2ª primavera (2012) e 3ª primavera (2013) e média das parcelas 9 (esquerda) e 11 (direita) do PC de Coruche.

4.3.2. Fenologia e biometria das estruturas reprodutivas

A partir dos registos fotográficos do material recolhido e das medições das estruturas comparam-se os vários estádios de desenvolvimento do material proveniente de Santa Suzana quer nas estruturas femininas (Tabela 27) quer masculinas (Tabela 28). Através da Tabela 17 podemos verificar que a floração teve início na última semana do mês de Abril, ficando as flores recetivas até sensivelmente ao fim de Maio. Durante os primeiros dois meses da sua formação, apresentam uma tonalidade esverdeada e um crescimento acentuado, atingindo os 2cm de altura e 1cm de largura. O tamanho permanece quase inalterado até cerca dos 23 meses de idade e as pinhas permanecem com uma coloração acastanhada (Fig. 53). Após esta fase o crescimento aumenta consideravelmente até ao início de Junho, altura na qual este abranda ligeiramente. As pinhas naturalmente continuarão o crescimento até sensivelmente o início de Setembro, altura na qual se dá a maturação do embrião.

Tabela 27 - Fenologia e Biometria do desenvolvimento das estruturas femininas realizada em Santa Suzana desde 19 de Novembro de 2012 até 21 de Junho de 2013.

Fenologia			Biometria	
Estado	Foto Macro	Data	Altura da estrutura (cm)	Largura da estrutura (cm)
Ápice reprodutivo		16 Abril 2013	6	0,8
Início da Floração		24 Abril 2013	1	0,6
Plena Floração		3 Maio 2013	1,5	0,8
Pós-Floração		11 Junho 2013	1,7	1
Pinha com 8 meses		3 Dezembro 2012	2,5	1,9
Pinha com 12 meses		24 Abril 2013	2,8	2,2
Pinha com 24 meses		24 Abril 2013	5,8	4,7
Pinha com 26 meses (pleno crescimento)		27 Junho 2013	7,4	6,1

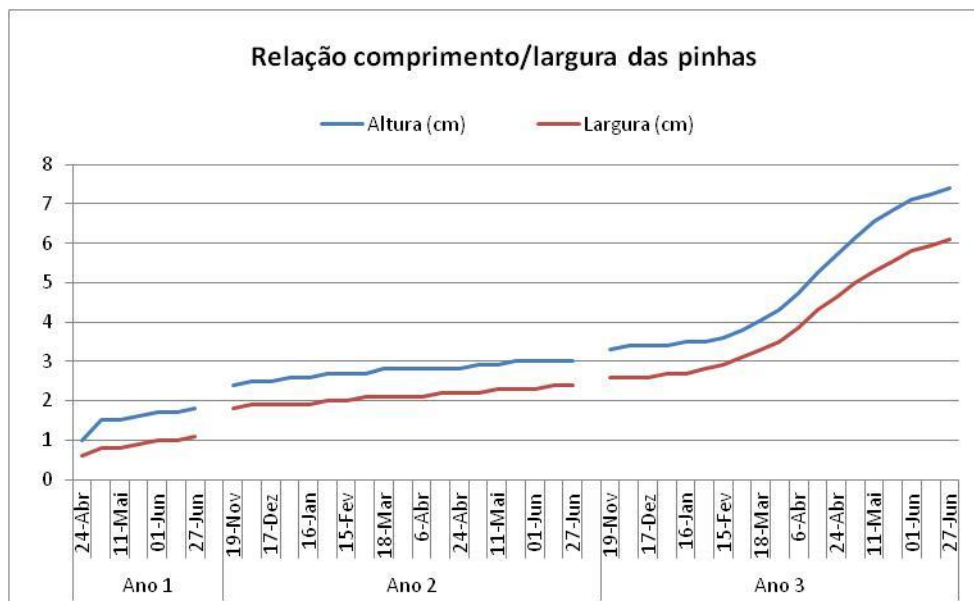







Figura 53 - Relação comprimento/largura das pinhas colhidas em Santa Suzana. O estudo iniciou no dia 19 de Novembro de 2012 e terminou no dia 27 de Junho de 2013.

Em relação às estruturas masculinas (Tabela 28) é possível verificar que os cachos polínicos são visíveis em meados de Abril. Uma semana após este período (maturação das pinhas polínicas), inicia-se a libertação do pólen. Em meados de Maio foi possível observar que estas estruturas já tinham libertado todo o pólen e começaram a dissecar e necrosar (pós-polinização). Posteriormente no ápice terminal inicia-se a formação de um novo crescimento vegetativo.

Tabela 28 - Biometria do desenvolvimento das estruturas masculinas realizada em Santa Suzana desde 19 de Novembro de 2012 até 21 de Junho de 2013.

Estado	Foto Macro	Data	Comprimento (cm)	Largura (cm)
Ápice reprodutivo		27 Março 2013	2	0,6
Pré-Polinização		16 Abril 2013	0,6 (Pinha Polínica)	0,3 (Pinha Polínica)
Plena Polinização		24 Abril 2013	0,9 (Pinha Polínica)	0,4 (Pinha Polínica)
Pós-Polinização		21 Maio 2013	0,9 (Pinha Polínica)	0,4 (Pinha Polínica)
Formação De novo ápice		27 Junho 2013	2	0,3

Através das observações fenológicas realizadas em Santa Suzana, facilmente se conclui que, sendo o *P. pinea* uma espécie dicogâmica e geralmente protândrica, as florações possuem uma zona temporal de coincidência de cerca de 20 dias (Tabelas 27 e 28).

4.3.2.1. Técnicas histológicas para a visualização das estruturas reprodutivas do pinheiro-mansó

Através de técnicas histológicas procedeu-se à observação microscópica da anatomia das estruturas femininas e masculinas, bem como de óvulos abortados (Fig. 54).

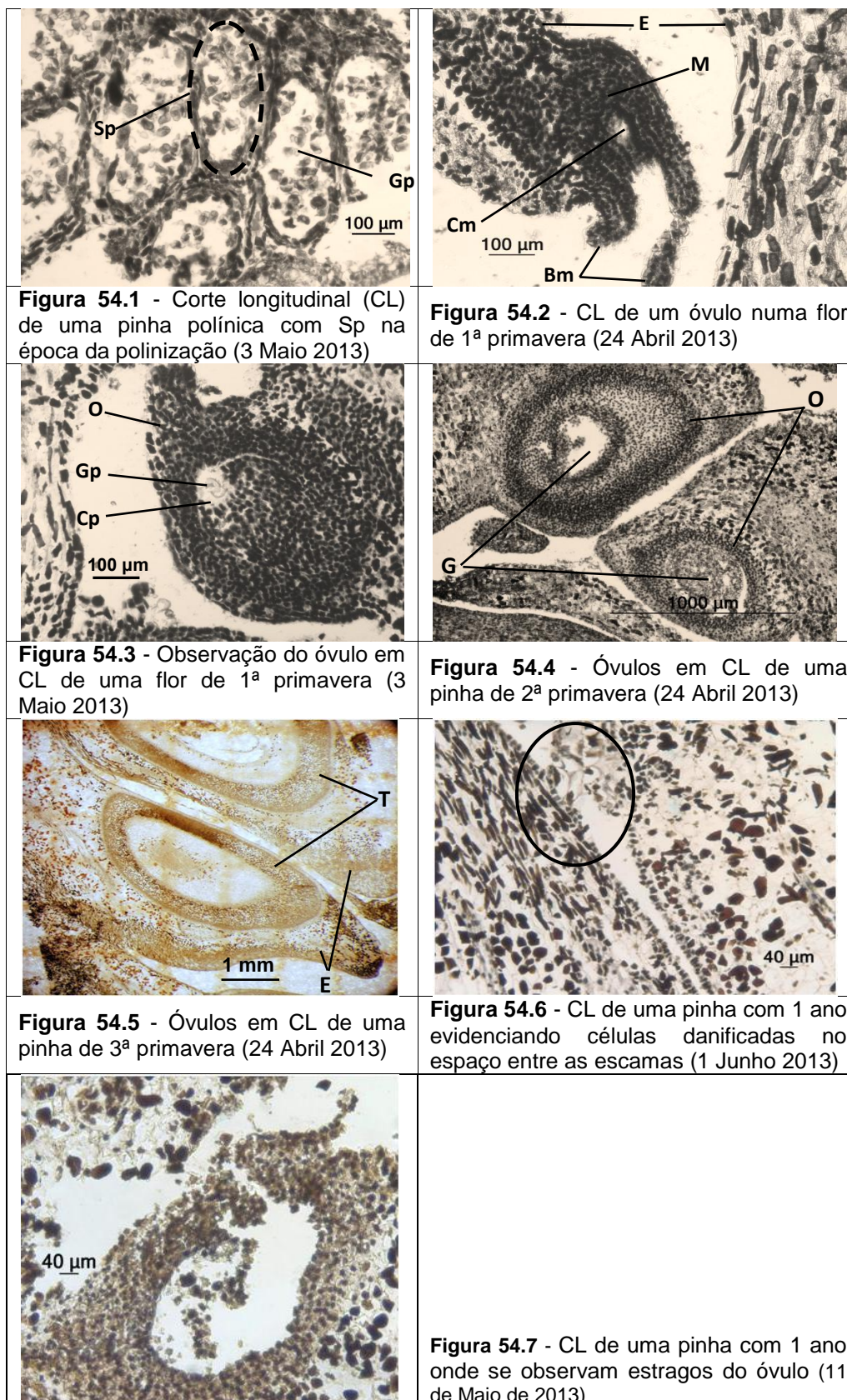


Figura 54 - Cortes histológicos realizados nas estruturas reprodutivas do pinheiro-mansó. Sendo, Sp - saco polínico; Gp - Grão de pólen, constituído pelo corpo e por duas asas (sacci); O - Óvulo; M - Megaspórângio; Bm - Braço do micrópilo; T - Tegumento; Cm - Célula mãe do megásporo; E - Escama; Cp - Câmara polínica; G - Gametófito.

Na Figura 54.1 é possível observar os grãos de pólen no interior das pinhas polínicas, em corte longitudinal. Na Figura 54.2 é visível um óvulo na época da floração, com o megasporângio, braços do micrópilo e célula mãe do megásporo bem definidos. De seguida observa-se um óvulo ligeiramente mais avançado, com um grão de pólen no interior da câmara polínica (54.3). Nas Figuras 54.4 e 54.5 são visíveis óvulos de pinhas com 1 e 2 anos, respetivamente, em que facilmente se distingue o gametófito, o tegumento e as escamas da pinha. Na Figuras 54.6 são visíveis estragos entre as escamas e em 54.7 é possível observar estragos no óvulo, ambos em pinhas de 2ª primavera.

4.3.2.2. Distância do óvulo à superfície da flor/pinha

Na tentativa de estabelecer uma relação entre a distância do exterior e o acesso aos óvulos para cada fase de desenvolvimento das pinhas com o comprimento do estilete do *L. occidentalis* nas várias fases de desenvolvimento, procedeu-se à medição da distância entre o óvulo e a superfície das flores/pinhas (Fig. 55).

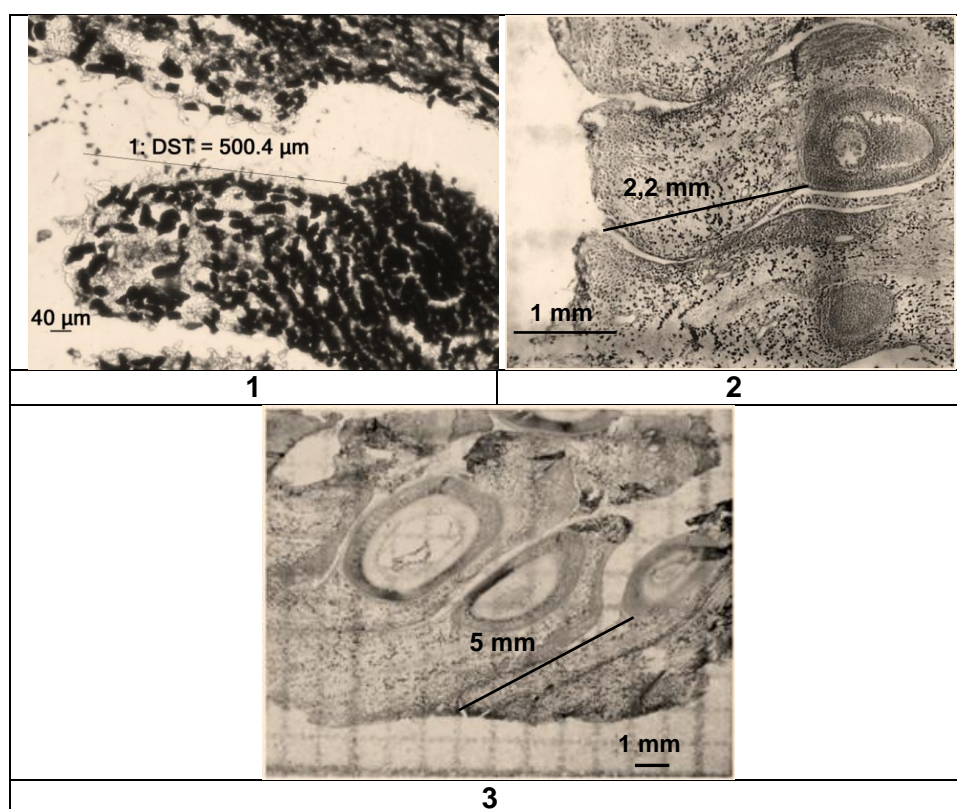


Figura 55 - Distância do óvulo à superfície em pinhas de 1ª, 2ª e 3ª primavera no dia 24 de Abril de 2013. Sendo, 1 - Numa pinha de 1ª primavera a distância é de 500,4 μm (0,5004mm); 2 - Numa pinha de 2ª primavera, cerca de 2,2mm; 3 - aproximadamente 5mm nas pinhas de 3ª primavera.

Na Figura 55.1 a distância entre o exterior da flor e o óvulo mede cerca de 500 μm , sendo este acesso direto devido ao espaço entre escamas. Nas pinhas da segunda primavera a distância em linha reta é cerca de 2,2mm, no entanto devido à junção das escamas e ao formato curvilíneo do canal formado, esta distância é ligeiramente superior podendo atingir os 2,5mm (Fig. 55.2). Já na pinha do 3º ano esta distância é de cerca de 5mm, podendo atingir os 5,5mm devido ao formato irregular do canal (Fig. 55.3).

5. Discussão e Conclusões

5.1. Produção de pinhão em Portugal

Relativamente à produção de pinhão, constataram-se diferenças periódicas ao longo dos anos, no entanto, na última campanha analisada (2011-2012) verificou-se que a produção de pinhão apresentou um dos valores mais baixos desde a campanha de 2000-2001 (25 milhões de Kg de pinhas). Em parte, estas variações devem-se a anos de safra e contra-safra. Carneiro *et al.*, (2007) refere que a periodicidade de safra e contra-safra na espécie é de 3 em 3 anos, o que contrasta com o observado no presente trabalho, cerca de 4 a 5 anos. Estes resultados são semelhantes ao mencionado por Pinheiro *et al.*, (2003). As diferenças periódicas são geralmente originadas por vários fatores, tais como o clima (precipitação e temperatura), características genéticas, idade da árvore, estado fitossanitário, densidade e tipo de condução do povoamento (Carneiro *et al.*, 2007). No entanto, o último ano (2011-2012) parece diferenciar-se negativamente das variações periódicas, normalmente denominadas por safra e contra-safra, sobretudo no rendimento do pinhão. A diminuição de produção em *Pinus pinea* é referida desde 1999 em Itália (Benassai *et al.*, 2007; Roversi *et al.*, 2011) assim como mais recentemente em Espanha (Vázquez *et al.*, 2009), admitindo-se que a presença de *L. occidentalis* seja um factor explicativo deste fenómeno.

Em relação aos rendimentos anuais de pinha/pinhão verificou-se que até à campanha de 2009/2010 o rendimento situou-se em torno dos 3,5-4%, um resultado similar ao obtido na Andaluzia (Espanha), com rendimentos entre os 3,5-4% (Montero *et al.*, 2004). Posteriormente, a campanha de 2010-2011 apresentou uma elevada produção e um baixo rendimento e a campanha de 2011-2012 uma baixa produção e rendimento.

Na análise efetuada para as variáveis “peso verde” e “número total de pinhões” verificaram-se, no geral, acréscimos significativos entre as duas campanhas e nos 5 distritos analisados. Como na campanha de 2011-2012 a produção de pinha foi menor (menor quantidade de pinhas por árvore), as árvores produziram pinhas maiores, resultando num maior peso e número de pinhões por pinha. Verificou-se igualmente a existência de uma correlação positiva entre estas duas variáveis evidenciando que quando as pinhas contêm um maior número de pinhões, apresentam um peso também maior. No entanto, verificou-se um aumento significativo na percentagem de pinhões vazios em todos os distritos analisados á exceção de Viseu. Este aumento pode ser devido à ação das diferentes pragas e doenças do pinheiro-manso. Salienta-se que

qualquer dano que possa eventualmente ser causado pelo *L. occidentalis*, não é macroscopicamente detetável, pelo que dificilmente estes estragos podem ser diretamente atribuídos a esta praga. Nas pinhas com estragos, constatou-se a incidência de duas espécies de insetos e uma de fungo, principalmente na campanha de 2011/2012, nomeadamente, *Pissodes validirostris*, *Dioryctria mendacella* e *Diplodia pinea*. Os estragos causados por todos estes agentes foram mais notórios em 2011-2012 do que no ano anterior o que poderá estar relacionado com o decréscimo substancial da produção. Contudo este comportamento diferiu entre distritos tendo sido apenas significativos a presença de *P. validirostris* em Évora e *D. mendacella* em Évora e Portalegre. Assim, a ação destes três agentes bióticos por si só pode não ser suficiente para justificar as diferenças significativas na percentagem de pinhões vazios.

Na informação disponibilizada pelo CSF (2011), a percentagem média de pinhas atacadas por *P. validirostris* e *D. mendacella* no monte UP 67 Navales, Molinillo e Reguera de Tordesillas (Espanha), desde 1993, foi de 5,7%. No entanto, em 2011 esse valor aumentou bastante, para valores de 40-50%. Em Portugal, nos cinco distritos onde foi realizada a amostragem de pinhas, a percentagem média de pinhas atacadas por estas duas espécies na campanha de 2010-2011 foi de 7,8% em todos os distritos (com um pico de 17% em Évora), valor bastante mais baixo do observado em Espanha. No entanto, em 2011-2012, este valor aumentou para 38,5% (bastante próximo do observado em Espanha em 2011) e obteve-se um pico de incidência de *P. validirostris* e *D. mendacella* em 100% das pinhas amostradas em Portalegre.

Perante os resultados obtidos, é necessário atuar ao nível da monitorização e controlo destes 3 agentes de maneira eficaz, de forma a diminuir a sua incidência e influência na produção de pinhão.

5.2. Estudo da biologia de *L. occidentalis* em Portugal

No estudo da biologia do *L. occidentalis*, foi possível obter com sucesso 150 indivíduos em vários locais do país. A técnica de utilizar um pano a proteger o solo, com batimentos na árvore, não surtiu efeito devido aos indivíduos de *L. occidentalis* terem facilidade de entrar em fuga através do voo, sendo estes capturados manualmente com o auxílio de um camaroeiro. A utilização de extratos de *P. pinea* para a captura de insetos foi ineficaz possivelmente devido à sua baixa durabilidade e de não ter um efeito atrativo suficiente ou ideal. Estudos futuros com outros modelos de armadilhas e atrativos poderão conduzir a resultados mais promissores.

Nas observações em condições de campo verificou-se que os insetos (ninfas e adultos) se alimentam nas pinhas da 3ª primavera e não foi possível vislumbrar *L.*

occidentalis a alimentarem-se de flores da 1ª e da 2ª primavera, não pelo facto de eles não as preferirem, mas porque estas estruturas se situam sempre no topo das árvores (difícil acesso). As flores do ano são de reduzidas dimensões e encontram-se nas extremidades superiores dos lançamentos do ano e as de 2ª primavera encontram-se ligeiramente abaixo destas, mas completamente encobertas por agulhas.

Na avaliação do ciclo biológico em condições naturais, o ensaio de mangas colocadas nos parques clonais permitiu a alguns insetos chegarem ao estado adulto. O relativo sucesso desta metodologia em relação ao acompanhamento do ciclo biológico em laboratório pode dever-se ao facto de estes insetos estarem inseridos em condições de habitat natural e com maior quantidade e diversidade de alimento.

No acompanhamento do desenvolvimento das posturas, foi possível obter 51 posturas nos 3 ensaios. Estas apresentaram em geral entre 9 e 10 ovos. A taxa de eclosão, sempre acima de 87%, foi ligeiramente superior à verificada num estudo realizado por Bates & Borden, (2005), para prever os estragos provocados pelo *L. occidentalis* em sementes de *P. contorta* na América do Norte (75 - 83%). O número de dias para a eclosão variou conforme a época do ano em que foi realizado, o que está dependente da temperatura ambiente. De facto, em Abril de 2013 o tempo de desenvolvimento embrionário foi cerca de 2x superior ao observado em Junho 2012 e Setembro de 2013, facto que pode ser justificado pelas temperaturas mais baixas, observadas em Abril.

O 1º instar apresenta uma duração muito curta, de 5 a 7 dias, aumentando no 2º instar para cerca de 18 a 20 dias, sendo nos restantes instares cerca de 8 dias. Sendo a duração de ovo de cerca de 10 dias e ocorrendo oviposição pouco tempo após a emergência dos adultos, pode-se concluir que o insecto pode completar o seu ciclo de vida em cerca de dois meses e meio, o que permitirá a ocorrência de duas a três gerações nas nossas condições climáticas.

No 1º e sobretudo 2º instar verificou-se uma grande mortalidade das ninfas (100% de mortalidade nos primeiros ensaios). Contudo, num ensaio posterior, conseguiu-se que 25% das ninfas do 2º instar passassem para o 3º instar. Resultados semelhantes foram obtidos por Bates & Borden, em 2005, em que a taxa de sobrevivência das ninfas desde a eclosão até ao estado adulto apresentou valores de 15% (2000) e de 2,5% (2001), com uma mortalidade elevada nos dois primeiros instares, revelando a elevada vulnerabilidade destas ninfas. Tal como verificado no presente trabalho, este facto é agravado pelas condições de espaço, temperatura, humidade ou tipo de alimento em condições laboratoriais, não ideais. Depois de atingirem o 3º instar, as ninfas sobreviveram bem em condições laboratoriais. Os indivíduos de 3º, 4º e 5º instar, bem como os adultos, apresentaram uma taxa de

sobrevivência de 75% do 3º instar a adulto, e de 81% do 4º e 5º instar a adulto. Este resultado é semelhante ao de um estudo realizado para averiguar os estragos provocados por *L. occidentalis* em sementes de *P. albicaulis* (Engelm.), onde se observou uma taxa de sobrevivência das ninfas de 4º e 5º instar até ao estado adulto de 81% (Anderton & Jenkins, 2001). Este facto deve-se possivelmente à sua maior robustez e capacidade de adaptação. Os adultos capturados em campo adaptaram-se bem às condições de laboratório, com 88,9% de sobrevivência.

Apesar de alguma inconstância na obtenção de sobrevivências que permitissem o estabelecimento do ciclo completo (nos dois anos não foi possível obter ninfas do 3º, 4º e 5º instar no período compreendido entre o início de Abril e a última semana de Agosto), a agregação dos diferentes ensaios efetuados permite um esboço temporal do que pode ocorrer no campo.

O comprimento do estilete e do corpo do inseto aumentam naturalmente ao longo dos diferentes instares. Em particular, é notório um grande aumento do comprimento do estilete do 1º para o 2º instar (2,5x mais) o que poderá ser devido à quantidade e tipo de alimento que o inseto necessita para completar o seu ciclo de vida. Comparando este resultado com a mortalidade observada nas ninfas de 2º instar, parece haver uma ligação entre a quantidade/tipo de alimento e a elevada mortalidade nesta fase, i.é., o alimento fornecido poderá não ter sido o suficiente ou ideal.

Quanto aos estragos em sementes, num estudo realizado no Canadá verificou-se que *L. occidentalis* pode originar reduções na redução de rendimento e qualidade das sementes de *Pseudotsuga menziesii* até 80% (Bates *et al.*, 2000). Num outro estudo, através do uso de Raios X, estimou-se estragos atribuídos a *L. occidentalis* em sementes de *Pseudotsuga menziesii* inferiores a 5% e cerca de 14% em *P. contorta* (Dougl.) (Blatt & Borden, 1996). Em 2001, Anderton & Jenkins verificaram que os estragos provocados pelo *L. occidentalis* se encontravam em 0,4-7,1% das sementes de *P. albicaulis*. Bates & Borden (2005) num estudo para prever os estragos provocados pelo *L. occidentalis* em sementes de *P. contorta*, verificaram que cada indivíduo adulto pode danificar 1,4-2 sementes por dia. Strong (2006) estimou uma redução de sementes viáveis de *P. contorta* em 1-1,7 sementes por dia por adultos de *L. occidentalis*, e de 0,6-1,2 sementes por dia em ninfas de 3º, 4º e 5º instar. Apesar destas percentagens não parecerem elevadas, o seu impacte pode ser enorme para densidades de população elevadas. Na região de origem, América do Norte, as densidades das populações não são conhecidas e o seu impacte é negligenciado por este causar estragos em espécies em que as sementes não têm tanto interesse comercial. No entanto, a importância económica do pinheiro manso em Portugal e

outros países produtores de pinhão reclamam um estudo mais aprofundado quanto à dimensão e dispersão das populações de *L. occidentalis*.

Estamos assim, perante um agente capaz de causar graves prejuízos de difícil deteção na fileira do pinheiro-manso. Partindo do princípio que *L. occidentalis* poderá aumentar a percentagem de pinhões vazios e acumulando estes estragos aos dos três agentes anteriormente descritos (*D. pinea*, *P. validirostris* e *D. mendacella*), facilmente se conclui que existe uma forte probabilidade de as diferenças significativas observadas no decréscimo do rendimento pinha/pinhão serem devidas à ação destes quatro agentes bióticos. É de realçar que o fungo *D. pinea* é dispersado, além do vento e chuva, por insetos, inclusivamente por *L. occidentalis*, o que aumenta a probabilidade de infeção por parte deste fungo (Luchi *et al.*, 2011).

Quanto à cartografia da presença e dispersão do *L. occidentalis* em Portugal Continental, os resultados das capturas de insetos permitem verificar que este inseto parece estar distribuído por todo o país (AFN, 2012). No entanto as suas densidades e efeitos na produção de pinhão não são claros, pelo que é necessário proceder à continuidade da sua prospeção, monitorização e efetuar uma avaliação continuada nos próximos anos para que se possa analisar o verdadeiro impacte desta espécie na fileira do pinheiro-manso. Esta análise terá de ser encarada numa ótica integrada de controlo de todos estes agentes, a qual terá de estar em sintonia com a fenologia reprodutiva do pinheiro manso.

5.3. Fenologia reprodutiva do pinheiro-manso

Das observações fenológicas realizadas no PC de Coruche, foi possível monitorizar os vários estádios de desenvolvimento das estruturas reprodutoras femininas e masculinas, tendo-se observado as flores femininas em plena floração e uma grande libertação de pólen no início de maio de 2013. Pelas observações fenológicas executadas em 2012, é provável que a época de plena floração e polinização tenham ocorrido em alturas muito semelhantes. Em ambos os anos as pinhas de 2ª primavera não apresentaram diferenças de tamanho notórias, parecendo em estado quiescente, enquanto que as pinhas de 3ª primavera indicavam estar em crescimento.

Durante os dois anos em que se realizou o estudo, o número de árvores com pinhas de 1ª e 3ª primavera aumentou, em contraste com as pinhas de 2ª primavera. Registou-se uma diminuição do número de árvores com pinhas durante o 1º ano de desenvolvimento das pinhas, ao passo que no 2º ano os valores igualaram-se para as duas parcelas. A elevada mortalidade durante o 1º ano de desenvolvimento pode-se

dever a causas naturais, fatores bióticos ou ao efeito cíclico originado pela safra e contra-safra.

No estudo de fenologia e biometria das estruturas reprodutivas realizado em Santa Suzana, observou-se a floração entre a última semana de abril e o início de junho. Nesta fase, as flores apresentaram 1-1,7cm de comprimento por 0,6-1cm de largura, permanecendo com poucas alterações até cerca dos 23 meses de idade (estado quiescente). Na primavera seguinte notou-se um rápido crescimento que durou até ao final do estudo. A polinização teve início em meados de abril, estando as pinhas polínicas maduras na mesma altura em que surgem as flores femininas. Em meados de maio todo o pólen tinha sido libertado, altura em que as novas flores ainda estavam recetivas ao pólen.

Ao comparar os resultados obtidos das observações fenológicas em Coruche com o acompanhamento fenológico em Santa Suzana, é perceptível que as épocas em que ocorrem a floração e polinização são sensivelmente as mesmas, verificando-se apenas que a floração/polinização em Santa Suzana é ligeiramente mais tardia (cerca de uma semana). Tais divergências poderão ser devidas às diferenças de precipitação, temperatura e exposição ao sol (Mutke *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2002; Montero *et al.*, 2004). A fenologia reprodutiva desta espécie parece ser influenciada por fatores climáticos, tal como acontece geralmente noutras espécies. Embora haja pequenas diferenças no “timing” da plena floração entre os locais, no mesmo local ela é simultânea, mesmo com uma variabilidade genética característica de uma população de pinheiros. Com base nas observações nos 2 locais, estabeleceu-se um modelo para a fenologia do pinheiro manso que compreende todo o ciclo reprodutivo desde a floração até à maturação do embrião (Fig. 56). Neste modelo fenológico, os cachos polínicos iniciam a sua formação entre a primeira e a segunda semana de abril e a floração feminina inicia-se logo de seguida. A polinização dura até sensivelmente meados do mês de maio, altura em que se dá a deiscência e verificam-se as pinhas polínicas com um aspeto seco e necrosado. A floração ocorre até aproximadamente à última semana de maio. Posteriormente dá-se início à formação de um novo ápice masculino e as flores do ano permanecem em estado quiescente (estado de letargia e crescimento bastante lento) e com uma coloração acastanhada até cerca dos 23 meses de idade. Em março da 3ª primavera adquirem novamente uma tonalidade esverdeada e nota-se um rápido crescimento (estado ativo), mantendo-se até ao início de Setembro. Em setembro e outubro dá-se a maturação do embrião (pinhões).

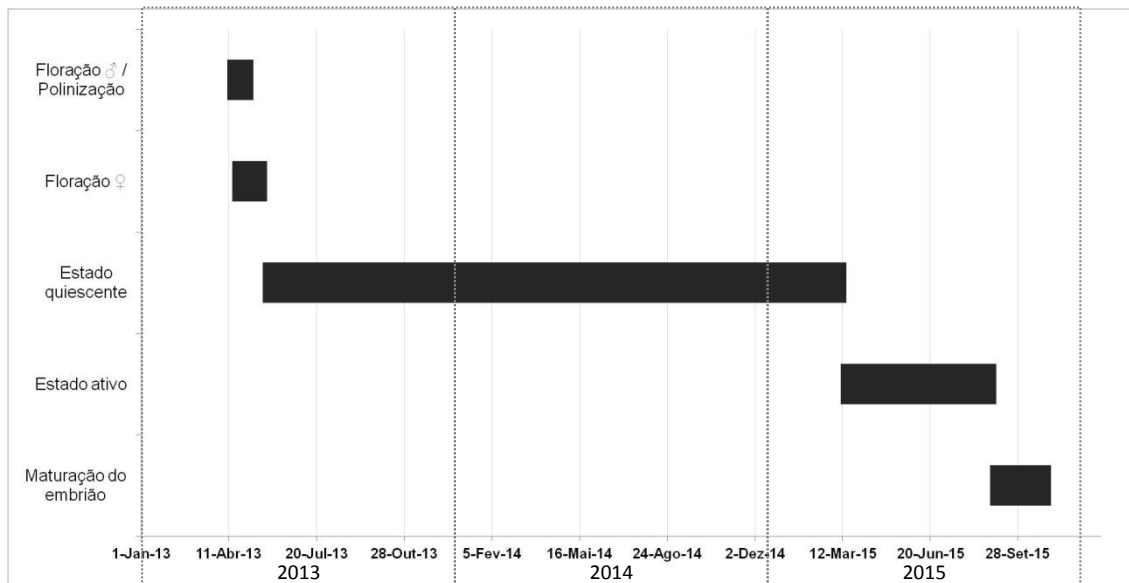


Figura 56 - Modelo de evolução fenológica da floração feminina, masculina e pinhas em *P. pinea* com base nos estados fenológicos das flores/pinhas verificados no PC de Coruche e reproduzidos para os anos de 2013 a 2015. Sendo, Floração - Altura em que as estruturas reprodutoras femininas se encontram maduras e aptas a receber o gâmeta masculino (pólen); Polinização - Altura em que as estruturas reprodutoras masculinas se encontram maduras e aptas a fecundar o gâmeta feminino; Estado quiescente - Altura em que as pinhas se encontram num estado de letargia e apresenta um crescimento bastante lento; Estado ativo - Altura em que as pinhas entram em crescimento acelerado; Maturação embrião - Altura em que dá a maturação dos embriões (pinhões).

Existem estudos da fenologia reprodutiva da espécie, principalmente em Espanha e Itália, que coincidem com os resultados obtidos neste trabalho. Num estudo realizado em Espanha por Mutke *et al.*, (2003), verificou-se que a floração e polinização ocorrem em abril e segundo Montero *et al.*, (2004), esse período, em geral, ocorre entre março e junho. Em 1989, Abellanas & Pardos realizaram um estudo do desenvolvimento das estruturas femininas de *P. pinea* e em 1958, Francini realizou um estudo para comparar o comportamento do gametófito feminino em *P. pinea*, *P. pinaster* e *P. halepensis*, nos quais se verificou que a formação dos óvulos de *P. pinea* ocorre em fevereiro/março e a abertura das pinhas e polinização ocorre em abril. Após esta fase, são visíveis poucas alterações nos óvulos até fevereiro do 3º ano de desenvolvimento, altura na qual os óvulos iniciam um rápido crescimento. A fecundação tem lugar em junho/julho e a maturação do embrião ocorre em setembro/outubro. Nas observações fenológicas realizadas no PC de Coruche e em Santa Suzana não foi possível verificar qual a altura da fecundação mas é provável que ocorra na mesma altura enunciada por Abellanas & Pardos, 1989, e Francini, (1958).

Através dos cortes histológicos realizados nas estruturas masculinas e femininas por Francini, (1958), verifica-se que os resultados são bastante aproximados

dos verificados no presente trabalho, no que diz respeito à anatomia das estruturas e datas de ocorrência de cada estágio. No entanto, este estudo histológico foi, no nosso caso, direcionado para tentar perceber o possível impacto de *L. occidentalis* nas estruturas reprodutivas femininas, no seu relacionamento com a anatomia e ciclo de vida e consequente efeito no aumento da percentagem de pinhões vazios. Através da medição do comprimento do óvulo à superfície da pinha e comparando com o tamanho do estilete do *L. occidentalis* nos vários instares, conclui-se que o inseto é capaz de inserir o estilete nos óvulos e causar estragos no pinhão em formação nas pinhas de 1ª e 2ª primavera. As pinhas de 3ª primavera apresentam um óvulo bastante desenvolvido e composto por tecidos muito pinionríticos, de fácil acesso entre as escamas, podendo ser essa a razão de serem encontrados indivíduos em todas as fases de desenvolvimento a alimentar-se dessas estruturas. Apenas as ninfas do 1º instar não têm a capacidade de chegar aos óvulos das pinhas de 3ª primavera, sendo todas as outras fases capazes de o fazer. No entanto, é provável que *L. occidentalis* não consiga alimentar-se dos pinhões em formação a partir da fecundação (pinhas com cerca de 26 meses de idade), altura em que o tegumento adquire uma dureza bastante elevada. Histologicamente foi possível verificar estragos no espaço entre as escamas e óvulos de pinhas com 1 ano de idade, podendo ser devidos à atuação dos diferentes agentes bióticos e, em particular, de *Leptoglossus occidentalis*.

Comparando o ciclo de vida do pinheiro-mansinho com o dos agentes bióticos e em especial de *L. occidentalis*, verifica-se que existe uma sincronia da sua atividade (Fig. 57). Tal como verificado no presente trabalho e apontado por Sousa *et al.*, (2012), *L. occidentalis* apresenta as suas fases de maior atividade durante os meses em que ocorre a floração/polinização e final do verão. Tal poderá ser justificado por ser a altura na qual existem melhores condições ambientais e é disponibilizado alimento em maior quantidade e mais facilmente pelo hospedeiro.

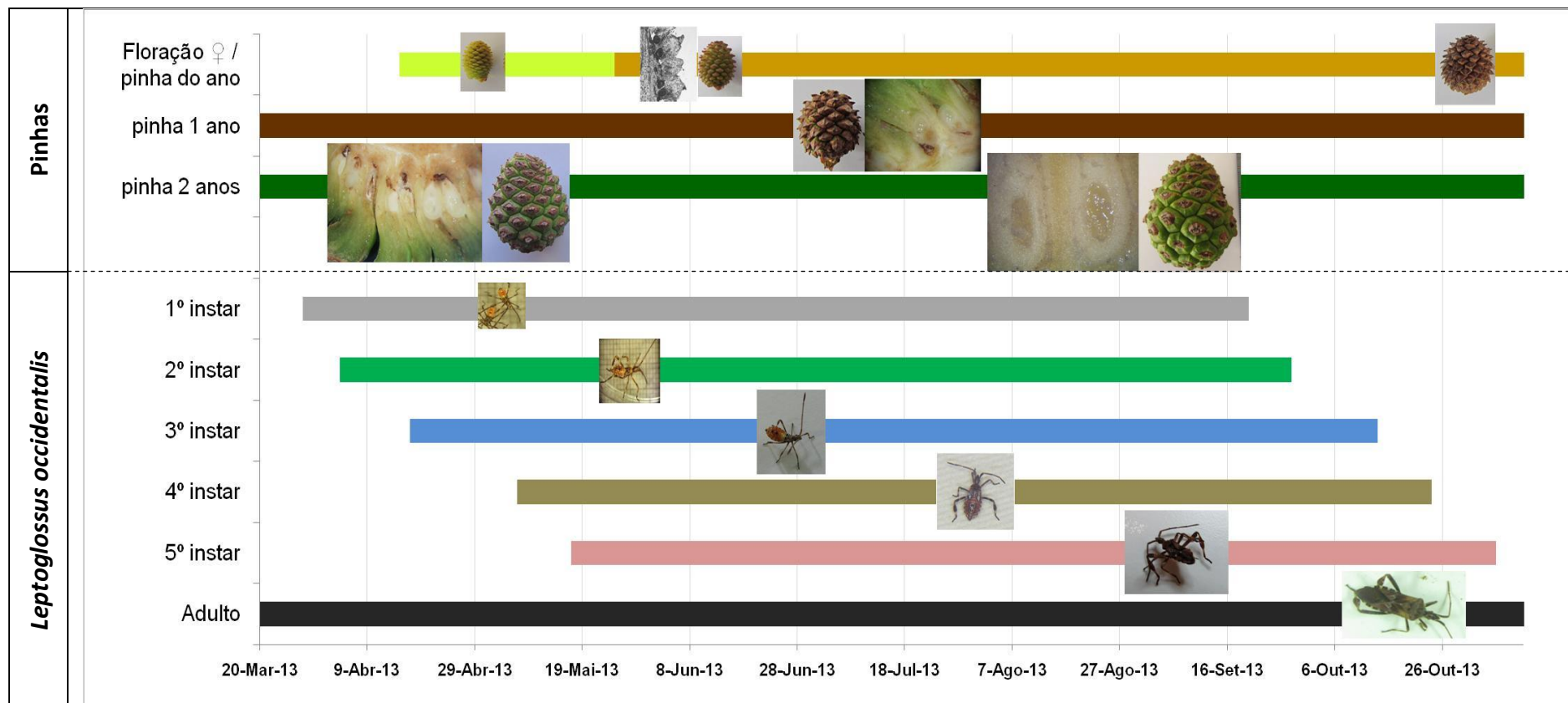


Figura 57 - Modelo de evolução fenológica das estruturas reprodutivas femininas em *P. pinea* e ciclo de vida do *Leptoglossus occidentalis* de Março a Outubro, época em que estes se encontram ativos.

Considerações finais

Os objetivos gerais propostos para o presente trabalho foram alcançados, permitindo recolher uma informação relevante sobre a evolução da produção de pinha e produtividade do pinhão, da incidência de agentes bióticos nas pinhas, do ciclo biológico de *L. occidentalis* e da fenologia reprodutiva de *P. pinea*. Este estudo evidencia a necessidade de realização de outros trabalhos que permitam esclarecer o impacto de *L. occidentalis*. É urgente a existência de dados estatísticos viáveis de produção/rendimento em termos anuais para as diferentes regiões produtoras do país. As diferenças entre produção/rendimento necessitam de ser melhor clarificadas, identificando-se quais os fatores que poderão estar na sua origem. Os estragos por outras pragas e doenças são significativos, com tendência a agravarem-se, principalmente devidos aos ataques de *P. validirostris*, *D. mendacella* e *D. pinea*.

O acompanhamento e monitorização das populações de *L. occidentalis*, adquire extrema importância, assim como a identificação clara do tipo de estragos que podem causar e do seu ciclo biológico em Portugal relacionado com a fenologia dos diferentes hospedeiros.

Ao comparar o ciclo de vida do *L. occidentalis* com a fenologia de *P. pinea*, foi possível verificar que existe uma sincronia. Todas as fases do ciclo de vida do inseto dispõem das pinhas das 3 primaveras para se alimentarem e apenas as ninfas do 1º instar não são capazes de se alimentarem de óvulos das pinhas de 3ª primavera, devido ao comprimento do seu estilete.

Apesar de ainda não terem sido quantificados os estragos causados, *L. occidentalis* é um agente biótico que pode ter um elevado impacto na fileira do pinheiro-mansinho, pelo que é necessário dar continuidade à sua prospeção, monitorização e efetuar uma avaliação continuada nos próximos anos.

Referências bibliográficas

Abellanas, B., Pardos, J. A. (1989). "Seasonal development of female strobilus of stone pine (*Pinus pinea* L.)". *Ann. Sci. For.*, 46 suppl.: 51 - 53.

AFN. (2012). *Programa de Ação: Sugador das Pinhas*. Autoridade Florestal Nacional. Direção Nacional para a Defesa da Floresta. Disponível em: <http://www.icnf.pt/portal/florestas/prag-doe/pmcabn/resource/doc/programa-acao-leptoglossus-v20120618>, data de consulta a 10 de Setembro de 2013.

Ambiente, A. (1978). *Carta dos Solos*. Cardoso, J. Carvalho; Bessa, M. Teixeira; Marado, M. Branco. Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa: Instituto Hidrográfico.

Ambiente, A. (1982). *Carta Hipsométrica*. Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa: Instituto Hidrográfico.

Ambiente, A. (1983). *Carta Litológica*. A.M. Soares da Silva. Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa

Ambiente, A. (1985). *Humidade do ar - humidade relativa às 9 t.m.g.*. Direcção Geral dos Recursos Florestais. Lisboa: Comissão Nacional do Ambiente.

Anderton, L. K., Jenkins, M. J. (2001). "Cone entomofauna of whitebark pine and alpine larch (*Pinaceae*): Potential impact of *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: *Coreidae*) and a new record of *Strobilomyia macalpinei* (Diptera: *Anthomyiidae*)". *The Canadian Entomologist*, 133: 399 - 406.

Barriguinha, A., Pinheiro, A., Gonçalves, A., Dias, S., Ribeiro, N., Carvalho, M. A., et al. (2004). *Avaliação do Desempenho de um Vibrador Mecânico na Colheita de Pinha (Pinus pinea L.)*. Universidade de Évora: Departamento de Engenharia Rural. Disponível em: <http://www.esac.pt/cernas/cfn5/docs/T1-12.pdf>, data de consulta a 16 de Setembro de 2013.

Bates, S. L., Borden, J. H. (2005). "Life table for *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera: *Coreidae*) and prediction of damage in Lodgepole Pine seed orchards". *Agricultural and Forest Entomology*, 7: 145 - 151.

Bates, S. L., Lait, C. G., Borden, J. H., Kermode, A. R. (2000). "Effect of feeding by the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis*, on the major storage reserves of developing seeds and on seedling vigor of Douglas-fir". *Tree Physiology*, 21: 481 - 487.

Benassai, D., Feducci, M., Innocenti, M., Capretti, P., Tiberi, R. (2007). "Danni alla fruttificazione del pino domestico: indagine sulle cause e sulle perdite di produzione in Toscana". *Economia Montana - Linea Ecologica*, 39: 59 - 64.

Bernardinelli, I., Rovato, M., Zandigiacomo, P. (2006). *Life History and Laboratory Rearing of Leptoglossus occidentalis*. Italy: Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Piante - Università degli Studi di Udine. Disponível em: http://bfw.ac.at/400/iufro_workshop/proceedings/225_B4_Iris%20Bernardinelli%20et%20al_poster.pdf, data de consulta a 3 de Outubro de 2013.

Blatt, S. E., Borden, J. H. (1996). Distribution and impact of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae) in seed orchards in British Columbia. Canada: Centre for Pest Management, Department of Biological Sciences, Simon Fraser University. *Canadian Entomologist*, 128: 1065 - 1076.

Carneiro, A. N. (2005). *Ganhos Genéticos na Selecção de Características Biométricas das Pinhas e Semente de Pinheiro Manso*. Oeiras: Estação Florestal Nacional, Departamento de Ecofisiologia e Melhoramento Florestal. Disponível em: <http://www.esac.pt/cernas/cfn5/docs/T3-16.pdf>, data de consulta a 29 de Setembro de 2013.

Carneiro, A. N., d'Alpuim, M. d., Carvalho, M. A. (2007). *Manual Ilustrado: Enxertia do Pinheiro Manso*. Oeiras: Estação Florestal Nacional.

Costa, R., & Evaristo, I. (2008). *Condução de Povoamentos de Pinheiro Manso e Características Pinionricionais do Pinhão*. Oeiras: Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, I.P. INRB, I.P.

CSF. (2011). *Estudio de producción de pinas y sus danos: La Chinche del pino Leptoglossus occidentalis en Castilla y León*. Junta de Castilla y León: Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/78313672/Estudio-de->

produccion-de-pina-y-sus-danos-y-la-chinche-del-pino-Leptoglossus-occidentalis-en-Castilla-y-Leon-Juan-Carlos-Doming, data de consulta a 9 de Setembro de 2013.

Desprez-Loustau, M. L., Nageleisen, B. M. M., Piou, D., Vannini, A. (2006). "Interactive effects of drought and pathogens in forest trees". *Ann. For. Sci.*, 63: 597 - 612.

Doğmuş-Lehtijärvi, H. T., Lehtijärvi, A., Karaca, G., Aday, A. G., Oskay, F. (2009). "Susceptibility of different coniferous seedlings inoculated with *Diplodia pinea*". *SDU Faculty of Forestry Journal*, 48 - 56.

EPPO. (2010). *EPPO Reporting Service No. 1* (p. 8 - 12). Disponível em: <http://archives.eppo.int/EPPOReporting/2010/Rse-1001.pdf>, data de consulta a 2 de Outubro de 2013.

Evaristo, I., Seabra, R. C., Baeta, J., Pais, M. S. (2002). "Caracterização Molecular de Proveniências de *Pinus pinea* L. por RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)". *Silva Lusitana*, 10 (1): 53 - 61.

Fady, B., Fineschi, S., Vendramin, G. (2004). *Technical guidelines for genetic conservation and use of Italian Stone Pine*. EUFORGEN. INRA, France: Mediterranean Forest Research Unit, Avignon. Disponível em: http://www.euforgen.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/1036_Technicalguidelines_for_genetic_conservation_and_use_of_italian_stone_pine.pdf, data de consulta a 16 de Setembro de 2013.

Ferreira, M., Ferreira, G. (1990). *Pragas das Pinhas do Pinheiro Manso*. Oeiras: Estação Florestal Nacional - INIA.

Flowers, J., Nuckles, E., Hartman, J., & Vaillancourt, L. (2001). "Latent Infection of Austrian and Scots Pine Tissues by *Sphaeropsis sapinea*". *Plant Dis*, 85: 1107 - 1112.

Francini, E. (1958). "Ecologia comparata de *Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinaster* Sol, e *Pinus pinea* L. sulla base del comportamento de gametofito femminile". *Annali della Accademia Italiana di Science Forestali*, 7: 107 - 171 (+ Fotos).

Grosso-Silva, J.M. (2010). "The North American western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 (Hemiptera, Coreidae), new to Portugal". *Arquivos Entomolóxicos*, 4: 37 - 38.

ICNF. (2013). 6º Inventário Nacional. *Área dos usos do solo e das espécies florestais de Portugal Continental: Resultados Preliminares*. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Disponível em: <http://www.icnf.pt/portal/florestas/ifn/resource/ficheiros/ifn/ifn6-res-prelimv1-1> , data de consulta a 2 de Outubro de 2013).

Jacobs, S. B. (2010). *Insecto de la semilla del conífero: Leptoglossus occidentalis*. Departamento de Entomologia. Disponível em: <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/pdf/spanish-pdfs/WesternConiferSeedBugSp.pdf>, data de consulta a 12 de Setembro de 2013).

Johansen, D. (1940). *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill Book.

Klass, C. (2002). *Western Conifer Seed Bug: an unwanted house guest*. Cornell University: Cornell Cooperative Extension. Disponível em: http://www.ccenassau.org/hort/fact_sheets/b227_western_conifer_seed_bug_jan02.pdf, data de consulta a 20 de Setembro de 2013).

Luchi, N., Mancini, V., Feducci, M., Santini, A., Capretti, P. (2011). *Leptoglossus occidentalis* and *Diplodia pinea*: a new insect-fungus association in Mediterranean forests. *Forest Pathology*, v. 42, n. 3, p. 246 – 251.

Malumphy, C., Botting, J., Bantock, T., Reid, S. (2008). Influx of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (*Coreidae*) in England. *Het News*, 12; 7 - 9.

Martinez, F., Montero, G., Ruiz-Penado, R., Canellas, I., Candela, J. (2004). *El Pino Pinonero (Pinus pinea L.) en Andalucía: Ecología, distribución y selvicultura. Parte II*. Junta de Andalucía: Dirección General de Gestión Del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente.

Mendes, C., Queiroz, D., Anastácio, P., Gonçalves, M., Coelho, M. (1991). *O Clima de Portugal, Normais Climatológicas da Região de "Ribatejo e Oeste"*, Lisboa: INMG. Fasc.

Montero, G., F.Martinez, R.Alía, J.A.Candela, Ruiz-Peinado, R., Canellas, I., et al. (2004). *El Pino Pinonero (Pinus pinea L.) en Andalucía: Ecología, distribución y silvicultura. Parte I*. Junta de Andalucía: Dirección General de Gestión del Medio Natural, Consejería de Medio Ambiente.

Montero, G., Ruiz-Penado, R., Candela, J., Canellas, I., Gutierrez, M., Pavon, J., et al. (2004). *El Pino Pinonero (Pinus pinea L.) en Andalucía: Ecología, distribución y silvicultura. Parte III*. Junta de Andalucía: Dirección General de Gestión Del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente.

Mulrooney, B. (2004). *Sphaeropsis (Diplodia) Tip Blight of Pines*. University of Delaware: Cooperative Extension. College of Agriculture & Natural Resources. Disponível em: [http://www.docstoc.com/docs/79628302/Sphaeropsis- Diplodia -Tip-Blight-of-Pines](http://www.docstoc.com/docs/79628302/Sphaeropsis-Diplodia-Tip-Blight-of-Pines), data de consulta a 9 de Outubro de 2013.

Mutke, S., Gordo, J., Gil, L. (2003). Shoot growth and phenology modelling of grafted Stone pine (*Pinus pinea* L.) in Inner Spain. *Ann. For. Sci.*, 60: 527 - 537.

Navarro, J. M. (2011). *Amenazas del Pino Pinonero. Situación Fitosanitaria. Jornadas sobre Pinar, Pino, Pina y Pinón-Pinonero : Bloque 2 (Pino)*. Junta de Andalucía: Consejería de Medio Ambiente. Palacio de Congresos de Córdoba. Disponível em: http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/portal_web/web/temas_ambientales/montes/usos_y_aprov/jornada_pina/Pino/4josema.pdf, data de consulta a 4 de Outubro de 2013.

Pérez, I. M., Martínez, S. G., Miranda, R. A., Sánchez, L. G. (2002). *Growth phenology and mating system of maritime pine (Pinus pinaster Aiton) in central Spain*. España: Unidad de Anatomía, Fisiología y Genética, ETSIM, Madrid. Disponível em: http://www.inia.es/gcontrec/pub/miguel_1049887430069.pdf, data de consulta a 28 de Setembro de 2013.

Pinheiro, A., Peça, J., Gonçalves, A., Ribeiro, N., Carvalho, M. V., Fragoso, M., et al. (2003). *Mecanização da colheita de pinha (Pinus pinea L.)*. Universidade de Évora. Departamento de Engenharia Rural. Direcção Regional de Agricultura do Alentejo. ANSUB.

Reynolds & Oliveira. Disponível em:

<http://mecanizacao.der.uevora.pt/items/APMA2003artigo.pdf>, data de consulta a 13 de Setembro de 2013.

Regneri, S. M. (2000). *Fenologia de Pinus pinea L. en un banco clonal (Valladolid). Trabajo Fin de Carrera para optar al título de Ingeniero de Montes*. Universidad de Valladolid. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia.

Reid, S., Cannon, R., Malumphy, C., Tilbury, C., Straw, N. (2009). *Western Conifer Seed Bug Leptoglossus occidentalis: Plant Pest Fact Sheet*. The Food and Environment research Agency (FERA), UK: Sand Hutton. Disponível em: http://www.britishbugs.org.uk/heteroptera/Coreidae/Leptoglossus_occidentalis.pdf, data de consulta a 20 de Setembro de 2013.

Roversi, P., Strong, W., Caleca, V., Maltese, M., Peverieri, G. S., Marianelli, L., et al. (2011). Introduction into Italy of *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead), an egg parasitoid of the alien invasive bug *Leptoglossus occidentalis* Heidemann. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 41: 72 - 75.

Ruzin, S. (1999). *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford, New York: Oxford University Press.

Sousa, E. M., Evangelista, M., Rodrigues, J. M. (2007). *Identificação e Monitorização de Pragas e Doenças em Povoamentos Florestais*. EFN, DGRF, AFLOPS. Direcção Geral dos Recursos Florestais.

Sousa, E. (2012). *Pragas e Doenças da Floresta em Portugal*. Academia das Ciências de Lisboa. Sociedade Portuguesa de Ciências Florestais.

Sousa, E., & Naves, P. (2011). The Western conifer seed bug *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 (Heteroptera: Coreidae) in Portugal. Oeiras: Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, I.P., Unidade de Silvicultura e Produtos Florestais. *Bol. San. Veg. Plagas*, 37: 65 - 67.

Sousa, E., Ferreira, C., Pimpão, M., Naves, P., Valdivieso, T., Varela, C. (2012). *Sanidade dos povoamentos de pinheiro manso em Portugal: “Valorização da Fileira da*

Pinha/Pinhão". Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.. Auditório Municipal de Alcácer do Sal 18 de Setembro de 2012. Disponível em: http://www.unac.pt/attachments/162_03_Edmundo%20Sousa%20-%20INIAV.pdf, data de consulta a 21 de Setembro de 2013.

Strong, W. B. (2006). Seasonal changes in seed reduction in Lodgepole pine caused by feeding of *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae). Canada: Department of Biological Sciences, Simon Fraser University, Burnaby. British Columbia, 138: 888 - 896.

Telles, M. R. (2013). *A Cultura do Pinheiro Manso para a Produção de Pinha e Pinhão: Efeito da Enxertia no Rendimento de Povoamentos de Pinheiro manso*. APFC. UNAC - Workshop & Ação de Demonstração. Disponível em: http://www.unac.pt/attachments/article/168/03_Mariana%20Ribeiro%20Telles_APFC.pdf, data de consulta a 2 de Dezembro de 2013.

Valdivieso, T. (1999). *Estudo Sobre a Reprodução Sexuada e Caracterização de Cultivares de Castanea sativa Mill.: Dissertação apresentado às provas de acesso à categoria de Investigador auxiliar*. Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Agrária.

Varela, M. C. (1989). *Comportamento Reprodutivo de Pinus pinaster Ait. num Pomar Clonal de Sementes.: Trabalho apresentado como dissertação original para efeitos de acesso à categoria de Investigador Auxiliar*. Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Agrária.

Vásquez, M. Á., Costas, M., Outerelo, R., Melero-Alcíbar, R. (2009). Una chinche invasora en la Comunidad de Madrid: *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 (Hemiptera: Heteroptera: Coreidae). *Heteropterus Revista de Entomología*, 9(1): 49 - 51.

Anexos

Anexo I

Fabrico de extrato de *Pinus pinea* para colocação em armadilhas de processonária:

Material:

- 1L Éter dietílico (*Diethyl ether*, SIGMA-ALDRICH, CHROMASOLV®, for HPLC, $\geq 99.9\%$, inhibitor free);
- 1L Pentano (*Pentane*, SIGMA-ALDRICH, CHROMASOLV®, for HPLC, $\geq 99.0\%$);
- 1 Frasco de Erlenmayer de 1 litro com tampa de vidro e camisa em teflon para cada amostra;
- 1 Frasco de Erlenmayer de 500 ml sem tampa para cada amostra;
- 2 Copos de vidro de 500 ml para cada amostra;
- 2 Provetas de vidro de 250 ml (uma para cada reagente);
- Vareta de Vidro;
- Funil de vidro + papel de filtro;
- Balões de 500 ml (para armazenar);
- Frascos de 20 ou 40 ml para levar para o campo;
- Garrafa de alumínio ou papel de alumínio para cobrir frascos;
- Pipeta + 5 pontas para pipeta.

Procedimento:

Foram fabricados 5 extractos de *Pinus pinea*: agulhas, flores do ano (masculinas e femininas), pinhas da 2ª primavera, pinhas da 3ª primavera e um “bulk” (agulhas+flores do ano+pinhas de 2ª e 3ª primavera), cada um com o seguinte material:

- 5g de material vegetal ;
- 30ml de Éter dietílico e pentano (1:1).

De seguida efectuou-se o seguinte procedimento para cada extrato:

- 1) Misturar a medida de 15ml de Éter dietílico e 15ml de Pentano (usar proveta).
- 2) Retirar metade do líquido e reservar a outra metade no frasco de Erlenmayer;
- 3) Adicionar o material vegetal (5gr);
- 4) Juntar o restante líquido. À medida que se vai enchendo o recipiente, tapar e agitar a mistura, tendo o cuidado ao destapar por causa da pressão do vapor que se forma;
- 5) Deixar no mínimo 3 horas a “apurar”;
- 6) Decantar ou filtrar com funil de vidro;
- 7) Guardar em garrafa de alumínio ou frasco forrado a papel de alumínio no frigorífico.

Cuidados a ter:

- No frasco de Erlenmayer ter cuidado de deixar espaço para que o vapor possa acumular-se sem excessiva pressão;
- Durante o armazenamento no frigorífico é necessário destapar os extratos por pequenos períodos de tempo, para libertar a pressão do vapor;
- É necessário ter o material cortado em pequenos pedaços para libertar os extractos do interior dos canais, não bastando pô-las inteiras.

Aplicação do extracto:

A aplicação do extracto de cada amostra deverá ser efectuado num quadrado de pano absorvente/esponjoso com 5cm x 5cm e com 0,5 cm de espessura. Aqui será aplicado o extrato e mudado de 5 em 5 dias. Cada extrato deverá ser colocado numa bolsa ou saqueta de plástico para ser aplicada no interior das armadilhas de processonária.

